

*Tumorimmunologie oraler Plattenepithelkarzinome
- Bedeutung und Zusammensetzung des immuno-
logischen Mikromilieus*

Lena Spindler

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Medizin der Technischen Universität
München zur Erlangung einer
Doktorin der Zahnheilkunde (Dr. med. dent.)
genehmigten Dissertation.

Vorsitz: Prof. Dr. Herbert Deppe

Prüfer*innen der Dissertation:

1. Prof. Dr. Dr. Andreas Kolk
2. Priv.-Doz. Dr. Dr. Florian Bauer

Die Dissertation wurde am 08.08.2022 bei der Technischen Universität München ein-
gereicht und durch die Fakultät Medizin am 21.02.2023 angenommen.

*Meinen Eltern
in Liebe und Dankbarkeit gewidmet*

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	III
Abbildungsverzeichnis	IV
Tabellenverzeichnis	V
1 Einleitung	1
1.1 Definition und allgemeine Grundlagen	1
1.2 Ätiologie und Risikofaktoren.....	1
1.2.1 Alkohol.....	2
1.2.2 Tabak	2
1.2.3 Weitere Risikofaktoren.....	2
1.3 Epidemiologie	3
1.4 Diagnostik.....	4
1.4.1 Primärdiagnostik	5
1.4.2 Staging	6
1.4.3 Grading	8
1.5 Therapie	9
1.6 Prognostische Parameter	11
1.7 Nachsorge	12
1.8 Immuntherapie.....	13
1.8.1 Prinzip der Immuntherapie	13
1.9 Grundlagen des menschlichen Immunsystems im Zusammenhang mit der Krebsentwicklung.....	14
1.9.1 HLA-System und HLA-Klasse I (ABC).....	16
1.9.2 Einführung: Tumorerinfiltrierende Lymphozyten (TILs)	18
1.9.2.1 CD3 ⁺ -Lymphozyten.....	18
1.9.2.2 CD4 ⁺ -Lymphozyten.....	19
1.9.2.3 CD8 ⁺ -Lymphozyten.....	20
1.9.2.4 Regulatorische T-Zellen und Forkhead-Box-Protein P3 (FOXP3)	21
1.9.2.5 T _{H17} -Zellen und Interleukin-17A (IL-17A)	21
2 Zielsetzung	23
3 Material und Methoden	24
3.1 Studienpatienten und klinisch-pathologische Daten	24
3.2 Technische Ausstattung und Materialien für die immunhistochemische Analysen	26
3.2.1 (Technische) Laborausstattung	26
3.2.2 Antikörper	27
3.2.2.1 Primäre Antikörper	27
3.2.2.2 Sekundäre Antikörper.....	28
3.3 Laborverfahren und Immunhistochemie	28
3.3.1 TMA-Erstellung	28
3.3.2 Immunhistochemische Färbung.....	29
3.4 Auswertung	32
3.4.1 Quantifizierung und räumlich aufgelöste Auswertung der tumorerinfiltrierenden Lymphozyten.....	32
3.4.2 Einteilung in Wertungsgruppen	33
3.4.3 HLA-Klasse I	33

3.5	Statistik	34
4	Ergebnisse	35
4.1	Tumorerfiltrierende Lymphozyten	35
4.1.1	Zusammensetzung der TIL-Populationen an der Invasionsfront (IF)	35
4.1.2	Zusammensetzung der TIL-Populationen im der Tumorzentrum (TZe)	35
4.1.3	Wertungsgruppen	36
4.1.4	HLA-Klasse-I-Expression (ABC).....	38
4.1.5	Verhältnisse der TIL-Untergruppen	38
4.2	Korrelation der immunologischen Parameter miteinander	40
4.3	Immunologische Parameter in Korrelation mit klinikpathologischen und histopathologischen Daten	41
4.4	Verhältnisse der TIL-Subgruppen in Korrelation mit klinikpathologischen und histopathologischen Daten	42
4.5	Überlebenszeit in Korrelation mit immunologischen Parametern	43
4.6	Überlebenszeit in Korrelation mit den Verhältnissen der TIL-Subgruppen 47	
5	Diskussion	51
5.1	Diskussion der Methodik	51
5.2	Diskussion der Ergebnisse	52
5.2.1	Korrelation der immunologischen Parameter.....	52
5.2.2	Immunologische Parameter, sowie deren Verhältnisse in Korrelation mit klinikpathologischen und histopathologischen Daten	53
5.2.3	Überlebenszeit in Korrelation mit immunologischen Parametern, sowie mit den Verhältnissen der TIL-Subgruppen.....	55
5.2.4	Schlussfolgerung	57
6	Zusammenfassung	58
7	Literaturverzeichnis	59
8	Anhang	69
8.1	Anhangsverzeichnis	69
8.2	Anhang: Korrelation der immunologischen Parameter miteinander	70
8.3	Anhang: Immunologische Parameter in Korrelation mit klinikpathologischen und histopathologischen Daten.....	77
8.4	Anhang: Verhältnisse der TIL-Subgruppen in Korrelation mit klinik- und histopathologischen Daten.....	88
8.5	Anhang: Überlebenszeit in Korrelation mit immunologischen Parametern 106	
8.6	Anhang: Überlebenszeit in Korrelation mit den Verhältnissen der TIL-Subgruppen.....	109
9	Danksagung	113
10	Vorveröffentlichungen	114

Abkürzungsverzeichnis

A

A Arteria

C

CD cluster of differentiation

CT Computertomographie

CTL zytotoxische T-Zellen

D

DAB 3-3'-
Diaminobenzindintetrahydrochlorid

DFS Krankheitsfreies Überleben

DSS Krankheitsspezifisches Überleben

E

EBV Epstein-Barr-Virus

F

FFPE formalin-fixiertes, paraffin-
eingebettetes Gewebe

FOXP3 Forkhead-Box-Protein P3

H

H₂O₂ Wasserstoffperoxid

HIV Humanes Immundefizienz-Virus

HLA Humanes Leukozyten Antigen

HNO Hals-Nasen-Ohren

HNSCC Plattenepithelkarzinom im Kopf-
Hals-Bereich

HPV Humanes Papillomvirus

HR Harzard Ratio

HRP Meerrettichperoxidase

I

i intraepithelial

IF Invasionsfront

Ig Immunglobulin

IHC Immunhistochemie

IL Interleukin

IRS Immunreaktions-Wert

L

L1 Lymphangi Invasion

LCS liquid coverslip

M

m männlich

MHC Haupthistokompatibilitätskomplexe

Min Minuten

MRT Magnetresonanztomographie

O

OS Gesamtüberleben

OSCC orales Plattenepithelkarziom

P

PC positive Tumorzellen

PECA Plattenepithelkarzinom

PET Positronen-Emissions-
Tomographie

Pn1 perineurale Invasion

pTNM histopathologische TNM-
Klassifikation

S

s stromal

SI Färbungsintensität

T

TAA Tumorassoziierte Antigene

TAM tumorassoziierte Makrophagen

TCR T-Zellrezeptor

TGF-β. Transforming growth factor beta

T_H-Zelle T-Helferzelle

TMA Tissue Microarray

TME Tumormikromilieu

TNM T=Tumor, N=Nodus,
M=Metastasen

T_{regs} regulatorische T-Zelle

TUM .. Technische Universität München

TZe Tumorzentrum

U

UICC Union internationale contre le
cancer

V

V Vena

W

w weiblich

WHO World Health Organization

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Repräsentatives Beispiel eines TMAs (ohne Vergrößerung).....	29
Abbildung 2: Repräsentatives Beispiel für eine geringe Infiltration (Vergrößerung links: 4x, Vergrößerung rechts 20x).....	31
Abbildung 3: Repräsentatives Beispiel für eine starke Infiltration (Vergrößerung links: 4x, Vergrößerung rechts: 20x).....	31
Abbildung 4: Repräsentatives Beispiel der Doppelfärbung zur Identifizierung von Tregs durch Koexpression (Vergrößerung jeweils 20x)	32
Abbildung 5: Überlebenskurven nach Kaplan-Meier - Gegenüberstellung von FOXP3s ^{high} und FOXP3s ^{low} an der IF bezogen auf das OS	44
Abbildung 6: Überlebenskurven nach Kaplan-Meier - Gegenüberstellung von FOXP3s ^{high} und FOXP3s ^{low} an der IF bezogen auf das DSS.....	45
Abbildung 7: Überlebenskurven nach Kaplan-Meier - Gegenüberstellung von FOXP3s ^{high} und FOXP3s ^{low} an der IF bezogen auf das DFS.....	45
Abbildung 8: Überlebenskurven nach Kaplan-Meier - Gegenüberstellung von FOXP3s ^{high} und FOXP3s ^{low} innerhalb des TZe bezogen auf das OS	46
Abbildung 9: Überlebenskurven nach Kaplan-Meier - Gegenüberstellung von FOXP3s ^{high} und FOXP3s ^{low} innerhalb des TZe bezogen auf das DSS	46
Abbildung 10: Überlebenskurven nach Kaplan-Meier - Gegenüberstellung von FOXP3s ^{high} und FOXP3s ^{low} innerhalb des TZe bezogen auf das DFS	47
Abbildung 11: Überlebenskurven nach Kaplan-Meier - Gegenüberstellung von FOXP3i:CD4i ^{high} und FOXP3i:CD4i ^{low} innerhalb des TZe bezogen auf das OS	48
Abbildung 12: Überlebenskurven nach Kaplan-Meier - Gegenüberstellung von FOXP3i:CD4i ^{high} und FOXP3i:CD4i ^{low} innerhalb des TZe bezogen auf das DSS.....	48
Abbildung 13: Überlebenskurven nach Kaplan-Meier - Gegenüberstellung von FOXP3i:CD4i ^{high} und FOXP3i:CD4i ^{low} innerhalb des TZe bezogen auf das DFS.....	49
Abbildung 14: Überlebenskurven nach Kaplan-Meier - Gegenüberstellung von CD8s:CD4s ^{high} und CD8s:CD4s ^{low} innerhalb des TZe bezogen auf das OS	49
Abbildung 15: Überlebenskurven nach Kaplan-Meier - Gegenüberstellung von CD8s:CD4s ^{high} und CD8s:CD4s ^{low} innerhalb des TZe bezogen auf das DSS.....	50
Abbildung 16: Überlebenskurven nach Kaplan-Meier - Gegenüberstellung von CD8s:CD4s ^{high} und CD8s:CD4s ^{low} innerhalb des TZe bezogen auf das DFS.....	50

Tabellenverzeichnis

<i>Tabelle 1: (pathologische) TNM-Klassifizierung ((p)TNM) nach Brierley (2017).....</i>	<i>8</i>
<i>Tabelle 2: Stadiengruppierung (UICC) nach Brierley (2017)</i>	<i>8</i>
<i>Tabelle 3: Verteilung der klinisch- und histopathologischen Parameter</i>	<i>26</i>
<i>Tabelle 4: Färbeprotokoll (BOND RXm System).....</i>	<i>30</i>
<i>Tabelle 5: Zusammensetzung intraepithelialer TILs an der IF</i>	<i>35</i>
<i>Tabelle 6: Zusammensetzung der Infiltrationsdichte Stromaler TILs an der IF.....</i>	<i>35</i>
<i>Tabelle 7: Zusammensetzung intraepithelialer TILs im TZe.....</i>	<i>36</i>
<i>Tabelle 8: Zusammensetzung der Infiltrationsdichte Stromaler TIL im TZe</i>	<i>36</i>
<i>Tabelle 9: Wertungsgruppen Epithel.....</i>	<i>38</i>
<i>Tabelle 10: Wertungsgruppen Stroma</i>	<i>38</i>
<i>Tabelle 11: Verhältnisse der TIL-Subgruppen und resultierende Wertungsgruppen für IF und TZe</i>	<i>40</i>

1 Einleitung

1.1 Definition und allgemeine Grundlagen

Das orale Plattenepithelkarzinom (OSCC) ist in der Mundhöhle lokalisiert und wird als eine „invasive epitheliale Neoplasie mit unterschiedlicher Epitheldifferenzierung und der Eigenschaft frühe und ausgedehnte Lymphknotenmetastasen“ zu entwickeln definiert (Ebhardt und Reichart 2009).

Als Mundhöhle gilt dabei der Bereich zwischen den Lippen, dem vorderen Gaumenbogen und den Papillae vallatae. In ihr sind die vorderen zwei Drittel der Zunge (entspricht dem mobilen Anteil), der Mundboden, der vordere Gaumenbogen, der harte Gaumen, die Alveolarkämme, sowie die bukkale Schleimhaut lokalisiert. (Pigorsch et al. 2009)

Makroskopisch wird beim OSCC die endophytische von der exophytischen Form unterschieden: die erste Form stellt sich als verhärtetes Ulkus dar, die exophytische Form zeigt sich verrukös (Pigorsch et al. 2009; Ebhardt und Reichart 2009). Das OSCC tritt am Mundboden, vorderen zwei Dritteln der Zunge, der Wangenschleimhaut, am harten Gaumen und der Gingiva des Ober- und Unterkiefers auf (Ebhardt und Reichart 2009). Die Zunge und der Mundboden sind am häufigsten betroffen (Kaminagakura et al. 2012; Pigorsch et al. 2009). Die Lokalisation des Karzinoms innerhalb der Mundhöhle ist abhängig von den Risikofaktoren. Die Position des Karzinoms ist entscheidend, da aus ihr Therapieansätze bezüglich des notwendigen Sicherheitsabstandes bei der Resektion hervorgehen. Je nach Ausmaß der Tumorresektion kann es zu Funktionseinschränkungen der Mundhöhle kommen. (Pigorsch et al. 2009; Ebhardt und Reichart 2009)

1.2 Ätiologie und Risikofaktoren

Die Ätiologie für die Entwicklung eines OSCC ist multifaktoriell (Warnakulasuriya 2009). Tabak und Alkohol gelten seit langem als Risikofaktoren für die Entwicklung von Krebs in der Mundhöhle (Ogden 2005; Blot et al. 1988; Mehrotra und Yadav 2006; Robert Koch-Institut 2017). Kofaktoren stellen Ernährung, Immunschwäche und virale Infektionen mit Humanen Papillomviren (HPV16 oder 18), sowie dem Epstein-Barr-Virus (EBV) dar (Wolff et al. 2021; Mehrotra und Yadav 2006; Robert Koch-Institut 2017; Mast et al. 2009).

Sowohl Alkohol als auch Tabak scheinen je als Einzelkomponente oralen Krebs auszulösen zu können. In den meisten Fällen lässt sich dieser jedoch auf eine Kombination von Rauchen und Alkoholabusus zurückführen. Dem zugrunde liegt, dass die Patienten, welche Alkohol konsumieren häufig auch regelmäßig Rauchen und umgekehrt. (Blot et

al. 1988) Mehrere Studien zeigten den Zusammenhang zwischen einem, teilweise deutlich, erhöhten Krebsrisiko und der Kombination aus Alkohol- und Tabakkonsum (Blot et al. 1988; Hashibe et al. 2009; Krebs in Deutschland | 2013/2014).

1.2.1 Alkohol

In diversen Studien wurde Alkohol als unabhängiger Faktor herausgearbeitet (Wolff et al. 2021; Bagnardi et al. 2001; Altieri et al. 2002). Das Krebsrisiko steigt dabei signifikant mit der Anzahl der alkoholischen Getränke pro Woche (Balaram et al. 2002) und variiert mit der Art des alkoholischen Getränks (Blot et al. 1988). Blot et al. zeigten ein erhöhtes Risiko für die Entwicklung eines OSCC bei Konsum von Bier und hochprozentigem Alkohol auf. Bei Wein fiel das Risiko deutlich geringer aus, wenn 4 Getränke pro Tag nicht überschritten wurden. (Blot et al. 1988)

1.2.2 Tabak

Das Rauchen von Tabak ist mit dem Risiko, ein orales Plattenepithelkarzinom zu entwickeln, assoziiert (Wolff et al. 2021, Balaram et al. 2002). Das Risiko steigt signifikant mit der Anzahl der Zigaretten pro Tag (Rodriguez 2004; Franceschi et al. 1990). Auch die Dauer des Konsums zeigt eine Relevanz (Franceschi et al. 1990). Epidemiologische Studien ergaben, dass das Krebsrisiko bei Rauchern um 4-9-fach erhöht war, als bei Nichtrauchern. Bei mehr als 80 Zigaretten am Tag steigt das Risiko um das 17-fache (Neville und Day 2002). Patienten, die zum gegenwärtigen Zeitpunkt rauchten, hatten ein 3-fach höheres Risiko als ehemalige Raucher (Falk et al. 1989). Das Risiko der Patienten, die seit 15 Jahren aufgehört hatten zu rauchen, war dennoch 3-mal höher als bei Nichtrauchern (Andre; Schraub et al. 1995). Die Verwendung von Filterzigaretten ist mit einem geringeren Risiko verbunden, als bei anderen Zigarettenarten (Andre; Schraub et al. 1995; Lewin et al. 1998).

Neben dem Rauchen spielt auch der sogenannte rauchfreie Tabak eine Rolle. Dieser enthält zahlreiche karzinogene Substanzen, was den Einfluss des Tabaks als Risikofaktor unterstreicht. Studien zeigten zudem ein hohes karzinogenes Potential bei der Konsumierung von Schnupf- und Kautabak (Geus et al. 2019). Es besteht ein signifikanter Zusammenhang zwischen einem erhöhten Krebsrisiko in der Mundhöhle und dem Kauen von Betelnuss. Dieses steigt mit der Anzahl pro Tag und um das 6,7-fache, wenn Männer zusätzlich rauchen. Diese Kombination stellt zum Beispiel die wichtigste Determinante in Süd-Indien für die Entwicklung eines oralen Karzinoms dar. (Balaram et al. 2002)

1.2.3 Weitere Risikofaktoren

Das männliche Geschlecht zählt ebenfalls zu den Risikofaktoren, um an einem OSCC zu erkranken (Frare et al. 2016; Balaram et al. 2002; Hashibe et al. 2009; Krebs in

Deutschland | 2013/2014; Warnakulasuriya 2009). Das Risiko steigt zudem mit höherem Alter. Die Tumore treten häufig nach der 5. Lebensdekade auf, ihre maximale Häufigkeit erreichen sie dabei zwischen dem 60. und 70. Lebensjahr (Mast et al. 2009; Vigneswaran und Williams 2014). Unzureichende Mundhygiene gilt als weiterer Risikofaktor (Robert Koch-Institut 2017; Howaldt et al. 2000; Mast et al. 2009).

Die HPV-Infektion, speziell mit HPV 16, zählt als unabhängiger Risikofaktor für die Entwicklung eines Plattenepithelkarzinoms im Kopf- und Halsbereich (Majchrzak et al. 2014; Nelke 2013). Allerdings weist eine HPV-Infektion vor allem ein höheres Risiko für oropharyngealen Krebs auf, als für das orale Plattenepithelkarzinom (Dahlstrom et al. 2003; Götz et al. 2016; Majchrzak et al. 2014; Robert Koch-Institut 2017). Auch die Infektion mit EBV ist mit der Entwicklung eines oralen Plattenepithelkarzinoms assoziiert (Nelke 2013).

HIV-positive Krebspatienten erkranken typischerweise am Kaposi-Sarkom oder Non-Hodgkin-Lymphom (Frisch et al. 2001), aber auch orale Plattenepithelkarzinome treten häufig auf. Mögliche Einflüsse zur dessen Entwicklung stellen für diese Patienten Immunsuppression und opportunistische Infektionen dar. (Majchrzak et al. 2014; Mast et al. 2009)

Bei Patienten unter 45 Jahren scheint der Tabak- und Alkoholkonsum weniger ausschlaggebend zu sein. Als mögliche Einflüsse werden hier zum Beispiel genetische Prädispositionen, Ernährungsgewohnheiten oder auch HPV-Infektionen diskutiert. (Hashibe et al. 2009; Santos et al. 2016; Kaminagakura et al. 2012; Mehrotra und Yadav 2006)

1.3 Epidemiologie

Mehr als 90% aller oralen Malignome im oberen Aerodigestivtrakt sind Plattenepithelkarzinome (Johnson et al. 2011; Mast et al. 2009; Stenzinger et al. 2014). Diese stellen im Mundhöhlen- und Pharynxbereich die 6-häufigste Krebsart bei Männern und 8-häufigste bei Frauen dar (Warnakulasuriya 2009; Johnson et al. 2011). 2018 erkrankten weltweit 354.864 Personen an Krebs in der Mundhöhle (inklusive der Lippen), davon 61.885 europaweit (The Global Cancer Observatory 2019a). Weltweit starben 177.384 Patienten in diesem Jahr an den Folgen ihrer Erkrankung, 24.063 Personen davon in Europa. In Westeuropa sind, im Vergleich zu Nord- und Südeuropa, die höchsten Inzidenzraten zu verzeichnen. Die höchste Sterberate ist allerdings im Osten Europas nachzuweisen. Deutschland liegt bei den Inzidenzraten in Bezug auf Europa im Mittelfeld. (Warnakulasuriya 2009) 2018 wurden hierzulande 7.656 neue Fälle von Krebs in der Mundhöhle (inklusive Lippen) bekannt. 2.607 Patienten starben in diesem Jahr an den Folgen ihrer Erkrankung (The Global Cancer Observatory 2019b).

Ca. 2/3 aller Fälle treten in Entwicklungsländern auf (Warnakulasuriya 2009). Hochrisikoländer sind unter anderem Sri Lanka, Pakistan, Indien und Bangladesch. Hier stellt das orale Plattenepithelkarzinom die häufigste Krebsart bei Männern dar. (Warnakulasuriya 2009) Die globalen Unterschiede lassen sich durch Kultur, Ernährungsweise und genetische Faktoren erklären. (Johnson et al. 2011; Parkin et al. 2005)

In den meisten Ländern sind Männer häufiger betroffen als Frauen (Johnson et al. 2011; Warnakulasuriya 2009). Das Verhältnis von Männern zu Frauen beträgt 1,5:1. (Warnakulasuriya 2009; Vigneswaran und Williams 2014). In einigen Teilen der Welt steigt die Inzidenz für Frauen jedoch an (Johnson et al. 2011). Nach wie vor haben Frauen mit 59% eine höhere relative 5-Jahres-Überlebensrate als Männer (relative 5-Jahres-Überlebensrate: 48%). Grund hierfür ist unter anderem, dass Frauen zumeist weniger Tabak oder Alkohol konsumieren (Johnson et al. 2011). Auch bei jüngeren Patienten sind steigende Neuerkrankungen zu verzeichnen (Johnson et al. 2011), wobei das Entwicklungsrisiko mit zunehmenden Alter steigt und meistens nach dem 50. Lebensjahr diagnostiziert wird (Warnakulasuriya 2009; Vigneswaran und Williams 2014). Die Neuerkrankung von jüngeren Patienten könnte darauf hindeuten, dass andere Faktoren als Tabak und Alkohol an der Entstehung von Mundkrebs beteiligt sind. (Johnson et al. 2011)

Eine wichtige Rolle bei der Überwachung von Krebs spielen die Krebsregister. Die Datenlage ist in einigen Ländern allerdings als kritisch zu betrachten, da keine ausreichende Aufzeichnung stattfindet. Je nach Zugang zur Gesundheitsversorgung unterscheidet sich der weltweite Behandlungserfolg der Patienten. (Johnson et al. 2011)

1.4 Diagnostik

In der Regel fallen Karzinome in der Mundhöhle dem Patienten selbst als nicht abheilendes Geschwür oder als eine Veränderung des Gewebes, zum Beispiel als weiße oder rote Flecken, auf. Symptome gibt es initial sehr selten. Später können Schmerzen, Sensibilitätsstörungen, Funktionseinschränkungen der Zunge, Schwellungen, Lockerung der Zähne oder Schluckbeschwerden auftreten. (Pigorsch et al. 2009; Crossman et al. 2016)

Weitere Symptome können sich, gerade bei größeren Karzinomen, als Ulzerationen, Foetor ex ore, Funktionseinschränkung der Mundöffnung, Blutung sowie Gewichtsverlust darstellen (Ebhardt und Reichart 2009). Besteht eine Schleimhautveränderung über 14 Tage, sollte eine diagnostische Abklärung erfolgen. Dies kann zum Beispiel durch eine Probenbiopsie aus einem geeigneten Bereich geschehen (Pigorsch et al. 2009; Wolff et al. 2021). Die Entnahme von nekrotischem oder ulzeriertem Gewebe ist dabei zu vermeiden (Ebhardt und Reichart 2009).

1.4.1 Primärdiagnostik

Zur Diagnostik gehört initial die Anamnese. Neben der Allgemeinanamnese ist hier vor allem die Frage nach Trink- und Rauchgewohnheiten von Bedeutung. Die anschließende klinische Untersuchung beinhaltet neben der Inspektion der Mundhöhle und Aufnahme des dentalen Status auch die (bimanuelle) Palpation. (Pigorsch et al. 2009)

Zur zahnärztlichen Basisdiagnostik zählt zudem die Anfertigung einer Panorama-Schichtaufnahme. Sie sollte der weiteren Diagnostik vorausgehen. Die Computertomographie (CT) oder die Magnetresonanztomographie (MRT) **wird/werden?** zur Beurteilung der Ausdehnung des Tumors herangezogen. (Wolff et al. 2021)

Die CT ist sowohl zur Darstellung des Primärtumors als auch der einzelnen Lymphknotenstationen geeignet. Hier spielt vor allem die sogenannte Mehrzeilen-CT eine Rolle, welche sich durch eine hohe Auflösung auszeichnet. Für die Diagnostik im Kopf- und Halsbereich ist die CT-Untersuchung mit intravenösem jodhaltigem Kontrastmittel notwendig. Dem voraus geht dabei immer eine Untersuchung der Funktionsfähigkeit von Nieren und Schilddrüse. Die MRT kennzeichnet sich besonders durch ihren Weichteilkontrast im Vergleich zu anderen bildgebenden Verfahren. Unter bestimmten Indikationen kann auch eine kombinierte Untersuchung durch CT und MRT erforderlich sein. (Lutz et al. 2009)

Die Sonographie ist ein geeignetes Schnittbildverfahren für das Staging, die Therapieplanung und die Verlaufskontrolle. Sie zeichnet sich durch geringfügige Belastung für den Patienten und eine hohe Signifikanz aus. Allerdings sollte die Sonographie von einem erfahrenen Behandler durchgeführt werden. Zudem können nicht alle Lymphknoten des Halses wie gewünscht erfasst werden, sodass das abschließende Staging der Lymphknoten durch andere Verfahren erfolgen sollte. (Lutz et al. 2009)

Eine Metastasierung erfolgt in der Regel in die regionären Lymphknoten. Das Risiko steigt mit Tumorstadium bzw. Infiltrationstiefe des Primärtumors (Pigorsch et al. 2009). Fernmetastasen sind eher selten. Routinemäßig werden diese durch ein Röntgenthorax oder Thorax-CT ausgeschlossen (Ebhardt und Reichart 2009). Dies ist vor allem bei Patienten mit fortgeschrittenen Stadien (III und IV) relevant, um einen pulmonalen Metastasenbefall zu diagnostizieren. Die Positronen-Emissions-Tomographie (PET)-CT spielt bei der Primärdiagnostik keine Rolle. Bei Verdacht eines Rezidivs kann sie das CT oder MRT ergänzen. (Wolff et al. 2021)

Um einen gleichzeitig vorliegenden Zweittumor auszuschließen, wird im Rahmen der Primärdiagnostik eine Hals-Nasen-Ohrenärztliche und ggf. endoskopische Untersuchung durchgeführt. (Wolff et al. 2021)

1.4.2 Staging

Um die Erkrankung prognostisch einordnen zu können, hat sich das Staging mittels der TNM Klassifikation und nachfolgend den UICC-Stadien (Union internationale contre le cancer) etabliert (Röper und Hölzel 2009; Ebhardt und Reichart 2009). Mithilfe dieser Klassifikationen ist es möglich, die Kommunikation unter den Behandlern durch eine prägnante kurze Beschreibung zu erleichtern, einen Behandlungsplan zu erarbeiten und Kontrollen der Erkrankung durchzuführen. (Wittekind 2010)

Mit der TNM-Klassifikation lassen sich Krebspatienten grundsätzlich in verschiedene Stadien einordnen. Die Unterteilung richtet sich dabei nach anatomischer Ausbreitung der jeweiligen Erkrankung und kann sowohl klinisch (TNM) als auch histopathologisch (pTNM) erfasst werden. Diese Befundbeschreibung trägt einen Teil zur Prognosefindung und Erstellen eines geeigneten und individuellen Therapieplans für den Patienten bei. Sie basiert auf vorher durchgeführten klinischen Untersuchungen, bildgebenden Verfahren, aber auch auf den Ergebnissen einer Biopsie bzw. chirurgischer Exploration. Die pathologische Klassifikation wird in der Regel postoperativ durchgeführt. Der prätherapeutisch erfasste Befund kann dadurch angepasst, sowie eine adjuvante Therapie geplant werden. (Wittekind 2010)

Folgende 3 Parameter werden für die Klassifizierung erfasst: Ausbreitung des Primärtumors (T), An- oder Abwesenheit, bzw. Ausbreitung von regionären Lymphknotenmetastasen (N) und An- oder Abwesenheit von Fernmetastasen (M). Diese Parameter werden jeweils mittels hinzugefügten Ziffern weiter differenziert (T0, T1, T2, T3, T4, N0, N1, N2, N3, M0, M1) (Brierley 2017).

(p)T - Primärtumor	TX	Primärtumor kann (histologisch) nicht beurteilt werden
	T0	Kein (histologischer) Anhalt für Primärtumor
	Tis	Carcinoma in situ
	(p)T1- (p)T4	Zunehmende Größe und/oder lokale Ausdehnung des Primärtumors (bei histologischer Untersuchung)
	(p)T1	Tumor 2cm oder weniger in größter Ausdehnung, 5mm oder weniger Invasionstiefe
	(p)T2	Tumor 2cm oder weniger in größter Ausdehnung und mehr als 5mm, aber nicht mehr als 10mm Invasionstiefe

		oder Tumor mehr als 2cm, aber nicht mehr als 4cm in größter Ausdehnung, Invasionstiefe nicht mehr als 10mm
	(p)T3	Tumor mehr als 4cm in größter Ausdehnung oder mehr als 10mm Invasionstiefe
	(p)T4a	Tumor infiltriert durch kortikalen Knochen der Mandibula oder Kieferhöhle oder die Gesichtshaut
	(p)T4b	Tumor infiltriert Spatium masticatorium, Processus pterygoideus oder Schädelbasis oder umschließt die A. carotis interna
(p)N – Regionale Lymphknoten	NX	Regionäre Lymphknoten können (histologisch) nicht beurteilt werden
	(p)N0	(Histologisch) keine regionären Lymphknotenmetastasen (Anmerkung: Selektive Neck-Dissektion und histologische Untersuchungen üblicherweise von 10 oder mehr Lymphknoten oder radikale oder modifiziert-radikale Neck-Dissektion und histologische Untersuchung üblicherweise von 15 oder mehr Lymphknoten)
	(p)N1- (p)N3	Zunehmender Befall regionärer Lymphknoten (bei histologischer Untersuchung)
	(p)N1	Metastase(n) in solitärem ipsilateralem Lymphknoten, 3cm oder weniger in größter Ausdehnung ohne extranodale Ausbreitung
	(p)N2a	Metastase(n) in solitärem ipsilateralem Lymphknoten weniger als 3cm bei extranodaler Ausbreitung oder mehr als 3cm, aber nicht mehr als 6cm in größter Ausdehnung ohne extranodale Ausbreitung
	(p)N2b	Metastasen mit multiplen ipsilateralen Lymphknoten, keiner mehr als 6cm in größter Ausdehnung, ohne extranodale Ausbreitung

Einleitung

	(p)N2c	Metastasen in bilateralen oder kontralateralen Lymphknoten, keiner mehr als 6cm in größter Ausdehnung, ohne extranodale Ausbreitung
	(p)N3a	Metastase(n) in (einem) Lymphknoten, mehr als 6cm in größter Ausdehnung ohne extranodale Ausbreitung
	(p)N3b	Metastase(n) in (einem) Lymphknoten, mehr als 3cm in größter Ausdehnung mit extranodaler Ausbreitung, oder jeder kontralaterale oder bilaterale Lymphknoten mit extranodaler Ausbreitung
(p)M - Fernmetastasen	(p)M1	Fernmetastasen (mikroskopisch) bestätigt

Tabelle 1: (pathologische) TNM-Klassifizierung ((p)TNM) nach Brierley (2017)

Nach der Befundung lassen sich die Ergebnisse in UICC-Stadien einteilen (Brierley 2017; Wittekind 2010). Diese sind in Tabelle 2 bezogen auf die Mundhöhle dargestellt.

Stadium 0	Tis	N0	M0
Stadium I	T1	N0	M0
Stadium II	T2	N0	M0
Stadium III	T1, T2, T3	N1	M0
	T3	N0	M0
Stadium IVA	T1, T2, T3, T4a	N2	M0
	T4a	N0, N1	M0
Stadium IVB	Jedes T	N3	M0
	T4b	Jedes N	M0
Stadium IVC	Jedes T	Jedes N	M1

Tabelle 2: Stadiengruppierung (UICC) nach Brierley (2017)

1.4.3 Grading

Die Ermittlung des Differenzierungsgrades (Grading) ist von prognostischer Bedeutung. Neben der epithelialen Differenzierung fließt hier der Grad der Keratinisierung, sowie des invasiven Wachstums in die Beurteilung ein. Von einem invasiven Karzinom spricht

man, wenn der Tumor die Basalmembran durchbrochen hat und in darunterliegendes Gewebe, wie Muskeln und Bindegewebe, infiltriert. (Ebhardt und Reichart 2009)

Beim Grading wird das Gewebe in Grad 1-3 unterteilt. Grad 1 entspricht dabei einem hoch differenzierten Gewebe. Histologisch lässt sich eine Ähnlichkeit zu ordnungsgemäßem ausdifferenzierten Plattenepithel mit häufiger Verhornung feststellen. Die Zellen sind geringfügig pleomorph verändert, Mitose findet sich selten. Grad 2 entspricht mäßig differenziertem Gewebe. Die Mitoserate ist erhöht und es liegt eine Pleomorphie der Zellkerne vor. Die Hornbildung ist weniger ausgeprägt. Grad 3 stellt eine niedrige Differenzierung des Gewebes dar. Die Zellkerne sind hochgradig pleomorph verändert, die Mitoserate, sowie die Anzahl an atypischen Mitosen ist hoch. Grad 1 stellt damit eine bessere Prognose als Grad 3 dar. (Ihrler und Weiler 2009)

1.5 Therapie

Der weitere Behandlungsverlauf sollte in einer interdisziplinären Tumorkonferenz erarbeitet und festgelegt werden. Die beteiligten Fachdisziplinen bei der Behandlung des OSCC sind neben der Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie die HNO, Strahlentherapie, Onkologie, Pathologie und Radiologie. (Wolff et al. 2021)

Bei der konservativen und chirurgischen Therapieentscheidung steht neben dem Allgemeinzustand des Patienten, auch die Operationsfähigkeit des Tumors im Mittelpunkt. Dabei muss eruiert werden, ob ein tumorfreies Resektat erreicht werden kann und die postoperative Lebensqualität im Verhältnis zu dem Eingriff steht. (Wolff et al. 2021)

Therapie der Wahl ist die chirurgische Behandlung des Karzinoms, welche gegebenenfalls durch eine adjuvante Therapie ergänzt wird. Hierfür kommen die Radiotherapie oder Radiochemotherapie in Frage. Voraussetzung für das chirurgische Vorgehen ist die Operationsfähigkeit des Patienten und ein kuratives Behandlungsziel. (Pigorsch et al. 2009)

Die Tumorresektion erfolgt dabei mit geeignetem Sicherheitsabstand. Als positiver Schnittrand gilt ein Abstand von weniger als einem Millimeter zwischen Resektionsrand und der Tumorgrenze. Als sicherer Resektionsrand wird ein Abstand von 5mm bezeichnet, 1-3 mm gelten als knapper Sicherheitsabstand. Durch einen intraoperativen Schnellschnitt erfolgt eine rasche Beurteilung des Gewebes. (Wolff et al. 2021; Pigorsch et al. 2009)

Die Schnellschnittdiagnostik wird zur Diagnosesicherung, Kontrolle auf Tumorfreiheit der Resektionsränder, sowie für die Beurteilung des Infiltrationsausmaßes durchgeführt.

Das Gewebe sollte dabei möglichst schonend entnommen werden, um die Struktur weitestgehend zu erhalten. Dies ist besonders von Bedeutung, da durch die spezielle Gefäßtechnik im Schnellschnitt ein verminderter Gewebeerhalt gegeben ist und zu eingeschränkten Ergebnissen führen kann. (Weiler et al. 2009)

Neben der Resektion des Primärtumors wird in den meisten Fällen zusätzlich eine Neck dissection durchgeführt. Die Prävalenz für eine Ausbreitung in die Lymphknoten des Halses ist bei oralen Plattenepithelkarzinomen hoch. In 20-40% der Fälle kommt es zudem zu einer okkulten Metastasierung. (Cornelius et al. 2009; Wolff et al. 2021)

Der Eingriff wird auch als zervikale Lymphadenektomie oder operative Ausräumung der Halslymphknoten bezeichnet. Sie hat das Ziel, eine lymphogene Metastasierung zu verhindern, bereits befallene Lymphknoten zu behandeln und unentdeckte Mikrometastasen zu entfernen. Die Richtung der Absiedlungen ist von der Lokalisation des Primärtumors abhängig und kann entsprechend ipsi-, kontra- oder bilateral erfolgen (Cornelius et al. 2009). Die Vorgehensweise des Eingriffes unterscheidet sich je nach dem im Staging ermitteltem Lymphknotenstatus. Sie kann ebenfalls uni- als auch bilateral durchgeführt werden (Cornelius et al. 2009; Pigorsch et al. 2009). Eine bilaterale Neck dissection ist vor allem bei Mittellinientumoren, wie zum Beispiel an der Zunge, indiziert. Wichtig ist hierbei, dass die V. jugularis interna auf einer Seite erhalten bleiben sollte. (Cornelius et al. 2009)

Die zervikalen Lymphknoten können anatomisch in 6 Level aufgeteilt werden. Level I, II und III sind beim oralen Plattenepithel häufig betroffen, Level IV und V in der Regel selten (Cornelius et al. 2009; Wolff et al. 2021).

Konnten in der präoperativen Diagnostik keine befallenen Lymphknoten nachgewiesen werden, kann die Behandlung elektiv, prophylaktisch oder explorativ erfolgen. Die Vorgehensweise richtet sich dabei nach dem Risiko für eine Metastasierung in die jeweiligen Lymphknotenlevel. Eine elektive Neck dissection ist in der Regel das therapeutische Mittel der Wahl. (Cornelius et al. 2009, S. 59; Wolff et al. 2021) Bei Lokalisation des Karzinoms am harten Gaumen oder Alveolarfortsatz im Oberkiefer, bei einer Invasionstiefe von weniger als 3mm, kann auf eine Neck dissection verzichtet, und das wait and see-Konzept angewendet werden (Wolff et al. 2021). Liegen bereits nachgewiesene Lymphknotenmetastasen vor, erfolgt die Behandlung in kurativer Absicht. Die radikale Neck dissection wird heute lediglich bei einem N-Status von N2 oder N3 durchgeführt, um die Morbidität in diesem Zusammenhang zu senken. (Cornelius et al. 2009) Stattdessen wird vermehrt die modifizierte radikale Neck dissection (N1- oder N2-Status) durchgeführt und Strukturen gegenüber der radikalen Neck dissection erhalten. (Wolff et al. 2021; Cornelius et al. 2009)

Je nach Größe und Lokalisation der Tumorresektion sind nachfolgend plastische Rekonstruktionen nötig, um Funktion und Ästhetik wiederherzustellen (Wolff et al. 2021; Pigorsch et al. 2009). Hierfür werden Gewebeverschiebungen oder -transplantationen durchgeführt. Die Rekonstruktionsmaßnahmen können entweder direkt bei positivem Operationsverlauf und gutem Allgemeinzustand des Patienten mit der Resektion durchgeführt (einzeitig), oder in einer gesonderten Operation (zweizeitig) erfolgen. (Pigorsch et al. 2009; Wolff et al. 2021)

Eine konservative Therapie sollte postoperativ bei ausgedehnten Tumoren (T3/T4), unvollständiger Resektion, perineuraler Invasion oder Gefäßinvasion, sowie bei Lymphknotenmetastasen in Form von einem Radio- oder Radiochemotherapie erfolgen. Die Therapie beginnt möglichst frühzeitig nach der Operation und wird in der Regel nach 11 Wochen abgeschlossen. (Wolff et al. 2021)

Liegt ein fortgeschrittener, nicht operabler Tumor, aber keine Metastasen vor, ist die Radiochemotherapie das konservative Verfahren der Wahl anstelle der alleinigen Strahlentherapie. (Wolff et al. 2021)

Ziel einer palliativen Behandlung ist es, die Beschwerden der Patienten zu lindern. Eine kurative Absicht besteht nicht. Die chirurgische Therapie hat hier den Zweck einer Verkleinerung des Tumors, sowie einer Steigerung der Lebensqualität des Patienten. (Pigorsch et al. 2009)

Neue Therapieansätze bietet die Immuntherapie. Sie wird in Kapitel 2.8 detaillierter beschrieben.

1.6 Prognostische Parameter

Die Prognose für das orale Plattenepithelkarzinom ist sowohl von der Lokalisation des Primärtumors, der Größe des Tumors, als auch von dessen Stadium abhängig (Röper und Hölzel 2009; Ebhardt und Reichart 2009). Liegt ein Befall von zwei oder mehr Lymphknoten und/oder eine extrakapsuläre Ausbreitung vor, verschlechtert dies die Prognose. Weitere negative Parameter stellen das Vorliegen von positiven Resektionsrändern und Gefäßinvasion dar (Ebhardt und Reichart 2009). Eine bilaterale Metastasierung in die Halslymphknoten verschlechtert die Prognose für den Patienten zudem erheblich (Cornelius et al. 2009). Eine Problematik besteht zudem in der häufig späten Diagnosestellung nach 6 Monaten. (Pigorsch et al. 2009) Die relativ beste Prognose für die Patienten stellt eine vollständige chirurgische Resektion des Tumors (R0) in Kombination mit der entsprechenden Durchführung einer Neck dissection dar (Pigorsch et al. 2009). Neueste Forschungen lassen vermuten, dass Tumordinfiltrierende Lymphozyten

einen Einfluss auf die Prognose beim OSCC haben könnten (Galon et al. 2016; Ruitter et al. 2017; Chen et al. 2018; Protti et al. 2014; Mlecnik et al. 2011).

1.7 Nachsorge

Die Nachsorge schließt sich direkt nach Beendigung der primären Behandlung an. Sie soll den Behandlungserfolg nach der Therapie kontrollieren, Nebenwirkungen erfassen bzw. Folgeerkrankungen frühzeitig erkennen und dem Patienten somit zu mehr Lebensqualität verhelfen. (Wolff et al. 2021; Papachristofilou et al. 2009)

Wichtig sind hier Maßnahmen für eine physische, psychische und soziale Rehabilitation. Häufigkeit und Ausmaß der Nachsorge sollten an die Wahrscheinlichkeit angepasst werden, mit der eine frühe Diagnose eines Rezidivs oder Metastasierung zur gesteigerten Lebensqualität und höheres Überleben beiträgt. Eine unnötige Belastung durch häufige Untersuchungen des Patienten sollte vermieden werden. (Papachristofilou et al. 2009)

Die Nachsorgeuntersuchung sollte jedes Mal einen lokalen Status, Spiegeluntersuchung und die Palpation des Halses umfassen. Zusätzlich kann die Sonographie des Halses, eine Panendoskopie, eine CT, MRT und/oder Röntgen-Thorax erfolgen (Papachristofilou et al. 2009; Wolff et al. 2021). In den ersten zwei Jahren nach erfolgter Therapie sollte der Patient in einem Intervall von 3 Monaten zur Nachsorge vorstellig werden. Im dritten bis fünften Jahr kann dieses auf ein Intervall von 6 Monaten reduziert werden. Das Nachsorgeschema sollte für jeden Patienten individuell geplant und durchgeführt werden. (Wolff et al. 2021)

Lokalrezidive treten häufig innerhalb der ersten 3 Jahre nach Beendigung der Therapie auf. Je nach vorangegangener Behandlung muss entschieden werden, ob eine aufwendige Diagnostik und Therapie die Lebensqualität des Patienten verbessert, bzw. sein Überleben verlängert. Bei Erstdiagnose eines OSCC im Falle eines späten Tumorstadiums und ausgedehnter Resektion liegt die 5-Jahres-Überlebensrate nach Lokalrezidiv bei lediglich 15%. Dem gegenüber stehen Patienten, die initial im frühen Tumorstadium diagnostiziert wurden, da die Therapieoptionen eine bessere Prognose haben. Bei diesen Patienten sollte in jedem Fall eine regelmäßige Nachsorge stattfinden. (Papachristofilou et al. 2009)

1.8 Immuntherapie

Die Behandlung des OSCC stellt trotz fortschrittlicher Therapieansätze nach wie vor eine Herausforderung dar. Eine grundlegende Verbesserung in Bezug auf Überleben, Funktionserhalt und Lebensqualität war im Laufe der Zeit lediglich moderat möglich. (Subramaniam et al. 2019)

Klassische Behandlungskonzepte, wie Chirurgie, Radio- oder Chemotherapie bringen oft nicht den gewünschten Erfolg (Przybylski et al. 2018), sodass nach neuen, nicht-chirurgischen Behandlungsmöglichkeiten geforscht wird. Ein Beispiel ist die Immuntherapie - eine Therapieform, die bereits in vielen Gebieten der Onkologie genutzt wird. Durch ein besseres Verständnis der Immunantwort und des Tumormikromilieus (TME) soll eine Weiterentwicklung der Immuntherapie, und damit eine verbesserte Prognose für den Patienten erreicht werden. (Subramaniam et al. 2019; Renner et al. 2010)

Der Entwicklung des oralen Plattenepithelkarzinoms liegt eine komplexe Interaktion mit dem Immunsystem zugrunde. Durch Fremdantigene wird das körpereigene Abwehrsystem aktiviert, um diese Antigene zu bekämpfen. Bei einer Krebserkrankung arbeitet dieses System häufig ineffektiv (Przybylski et al. 2018). Die Immuntherapie kehrt diese Ineffektivität bzw. die Immunevasion um (Schuster et al. 2006; Armstrong et al. 2001) und macht sich die Funktionen zur körpereigenen Bekämpfung der Erkrankung zunutze (Przybylski et al. 2018; Armstrong et al. 2001). Die Stärkung des Immunsystems soll durch Zytokine, Immunmodulatoren, Krebsimpfstoffen und Modifikation von T-Lymphozyten hervorgerufen werden (Przybylski et al. 2018).

1.8.1 Prinzip der Immuntherapie

Durch fortschreitende Erkenntnisse in die Funktionsweise des Immunsystems, sowie der Interaktion zwischen Tumor und körpereigener Abwehr konnten Ansätze für eine immunologische Intervention erarbeitet werden (Renner et al. 2010). Für die Entwicklung von erfolgreichen Immuntherapien ist das Verständnis über die Immunevasion und den Aufbau des TME unerlässlich (Moy et al. 2017). Sie soll dabei unter anderem die Ausbreitung von Metastasen verhindern und die Lebensqualität von Patienten verbessern (Schuster et al. 2006).

Etabliert hat sich bereits die Verwendung Monoklonaler Antikörper (Subramaniam et al. 2019; Moy et al. 2017). Daneben gelang 2010 ein Durchbruch mit der Entwicklung der Checkpoint-Inhibitoren (Moy et al. 2017). Sie sind spezielle Antikörper, die sich an die Checkpoint-Rezeptoren von T-Zellen binden. Damit wird die Bindung zwischen einem inhibitorischen Liganden einer Tumorzelle mit dem Rezeptor verhindert und die T-Zelle kann eine Immunantwort auslösen (Subramaniam et al. 2019; Moy et al. 2017).

Die derzeitigen Therapieansätze zeichnen sich dabei durch eine gute Wirksamkeit bei geringen bzw. milden Nebenwirkungen für den Patienten aus (Moy et al. 2017; Schuster et al. 2006). Bei einigen Patienten führte eine Immuntherapie zu einer Verbesserung des Überlebens (Subramaniam et al. 2019).

1.9 Grundlagen des menschlichen Immunsystems im Zusammenhang mit der Krebsentwicklung

Das Immunsystem ist in der Lage, Tumorzellen zu erkennen (Armstrong et al. 2001; Lakshmi Narendra et al. 2013). Es spielt daher im Zusammenhang mit der Entwicklung von Krebs eine entscheidende Rolle. So kann es zum Beispiel prämaligne Zellen eliminieren, bevor ein Tumor entsteht. Eine Immunsuppression, wie zum Beispiel bei HIV, kann daher eine Krebsentwicklung begünstigen. (Moy et al. 2017)

Das körpereigene Abwehrsystem kann in eine unspezifische, angeborene und eine spezifische, erworbene Komponente unterteilt werden. Darüber hinaus verfügt das Immunsystem über humorale (Zytokine, Komplementsystem, Antikörper) und zelluläre (Granulozyten, T-Zellen, B-Zellen) Bestandteile (Renner et al. 2010; Subramaniam et al. 2019). Zur Bekämpfung eines malignen Tumors durch das Immunsystem ist das Eingreifen des angeborenen und erworbenen Immunsystems nötig (Renner et al. 2010).

Die Tumorentwicklung kann in 3 Stadien eingeteilt werden: die Elimination, das Äquilibrium sowie das Entweichen (Renner et al. 2010; Subramaniam et al. 2019). Bei der Elimination ist das Immunsystem in der Lage die Tumorzellen zu bekämpfen. Durch die Expression von tumorspezifischen bzw. tumorassoziierten Antigenen kann das Immunsystem Tumore erkennen und eine Immunreaktion auslösen (Renner et al. 2010; Moy et al. 2017). Tumorassoziierte Antigene (TAAs) sind abnormale Proteine, die aufgrund einer genetischen Instabilität entstehen. Solche TAAs setzen neue, möglicherweise immunogene Epitope frei, die vom Immunsystem des Wirts erkannt und eliminiert werden können (Schuster et al. 2006). Nach der Eliminierung folgt eine Latenzphase, auch das Äquilibrium genannt. Tumorzellklone mit schwacher immunogener Wirkung werden nur teilweise vom Immunsystem erfasst und bekämpft, der übrige Teil überlebt. Die 3. Phase stellt einen vollständigen Entzug der Kontrolle seitens des Immunsystems dar, wodurch es zu exponentiellem Wachstum und der Zerstörung des Wirtsorganismus kommt. (Renner et al. 2010)

Folgende immunologische Veränderungen tragen darüber hinaus zur Entwicklung von Karzinomen in der Mundhöhle bei: krebsförderndes Tumormikromilieu, Förderung von

immunsuppressiven Zellen und Modulation der Immunogenität (Subramaniam et al. 2019).

Das Tumormikromilieu (TME) besteht aus Krebs- und Immunzellen, sowie immunmodulatorischen Zytokinen und lässt sich in eine entzündete und nicht-entzündete Untergruppe einteilen. Bei der entzündeten Form ist zwar eine Immunreaktion durch Entzündungszellen wie CD8⁺-zytotoxischen T-Zellen vorhanden, diese ist aber ineffektiv. Es wird vermutet, dass dies auf eine immunsuppressive Wirkung innerhalb des TMEs zurückzuführen ist. Entzündete Tumoren neigen zu einer gesteigerten Mutationslast und haben ein dichtes entzündliches Stroma. Dieses Stroma wirkt zudem unter Umständen wie eine Barriere für Immunzellen und hat einen negativen Einfluss auf die Prognose der Patienten. (Subramaniam et al. 2019)

Der nicht-entzündete Typ zeichnet sich durch eine fehlgeschlagene Entzündungsreaktion bzw. fehlende Anlockung von T-Zellen aus. Eine Therapie sollte hier also auf die Rekrutierung von Immunzellen ausgelegt sein. (Subramaniam et al. 2019)

Die immunsuppressive bzw. zytotoxische Wirkung wird durch, von Krebszellen rekrutierten, hämatopoetischen Zellen hervorgerufen. Dazu zählen unter anderem CD4-regulatorische T-Zellen (T_{regs}) und tumorassoziierte Makrophagen (TAM). (Subramaniam et al. 2019) T_{regs} sind eine Untergruppe von T-Zellen. Sie sind für eine Regulierung der Autoimmunität zuständig, können jedoch auch eine krebsfördernde Wirkung aufweisen. T_{regs} führen dabei über verschiedene Mechanismen zur Apoptose und Stillstand des Zellzyklus von aktivierten T-Zellen. Darüber hinaus wirken sie hemmend auf die Funktion von dendritischen Zellen und natürlichen Killerzellen. Bei Patienten mit OSCC lassen sich regulatorische T-Zellen sowohl im peripheren Blut als auch im Tumor nachweisen. (Subramaniam et al. 2019) Der Einfluss von regulatorischen T-Zellen bei Krebs wird kontrovers diskutiert (Galon et al. 2014; Gentles et al. 2015; Protti et al. 2014).

TAM differenzieren innerhalb des TME in Anwesenheit von Zytokinen zu Makrophagen. Sie synthetisieren epidermale Wachstumsfaktoren, ein Polypeptid, welches bei der Mitoseeinleitung eine Rolle spielt. Darüber hinaus stehen TAM mit Angiogenese, lokaler Tumorprogression, Metastasierung sowie einer schlechten Prognose in Verbindung. (Subramaniam et al. 2019)

Die Modulation der Immunogenität erfolgt über die Reduzierung von Antigen-präsentierenden Mechanismen und Checkpoint-Blockaden. Besonders die Herunterregulierung von HLA-Klasse I zeigt eine schlechte Prognose, da dessen Gene Haupthistokompatibilitätskomplexe (MHC) codieren. Krebszellen sorgen für eine adäquate Herunterregulierung von HLA-Klasse I, um der Erkennung durch T-Zellen zu entgehen. Eine vollständige

Eliminierung erfolgt meistens nicht, da dies eine Reaktion von natürlichen Killerzellen gegen die Krebszellen auslösen würde. (Subramaniam et al. 2019; Moy et al. 2017)

Immuncheckpoints sind Rezeptoren auf zirkulierenden T-Zellen. Je nach Rezeptor-Ligand-Wechselwirkung kann die T-Zelle die Art anderer Zellen (selbst, nicht-selbst) identifizieren und eine entsprechende Immunantwort auslösen. Bindet die T-Zelle an Liganden einer Wirtszelle, wird eine Immunreaktion unterdrückt. Tumorzellen sind in der Lage diese Liganden ebenfalls zu exprimieren, der Identifizierung durch die T-Zellen zu entgehen und damit eine Immunantwort zu unterdrücken. Dieser Vorgang ist unter anderem Teil der sogenannten Immunevasion. Einen Ansatz der Immuntherapie stellen Checkpoint-Inhibitoren dar. Die negative Immunantwort soll damit aufgehoben werden, sodass das Immunsystem in der Lage ist den Tumor zu bekämpfen. (Subramaniam et al. 2019)

Zusammenfassend scheint das Immunsystem zum einen in der Lage zu sein dem Tumorwachstum entgegenzuwirken, aber auch es zu fördern. (Lakshmi Narendra et al. 2013)

1.9.1 HLA-System und HLA-Klasse I (ABC)

HLA ist die individuelle Bezeichnung beim Menschen für den Haupthistokompatibilitätskomplex (MHC). HLA steht für Humanes Leukozyten Antigen und ist ein umfassendes System, welches eine Schlüsselrolle in der zellulären Immunantwort darstellt und somit medizinisch von großer Bedeutung ist. Die Hauptaufgabe dieser fest in der Membran verankerten Glykoproteine liegt hierbei in der Antigenpräsentation. Dieser geht der proteolytische Abbau von Proteinen zu Peptiden voraus. Durch die Antigenpräsentation werden die Reifung und Funktion von T-Lymphozyten gesteuert. T-Zellen befinden sich in der Regel in einem Ruhezustand und werden erst über die Bindung an HLA aktiviert. Der Komplex ist in der Lage, zwischen Selbst und Nicht-Selbst zu unterscheiden. Dies wird durch den ternären Komplex aus Selbst-HLA-Molekül mit dem gebundenen Antigen und dem T-Lymphozytenrezeptor gewährleistet. Dieses Phänomen wird auch als MHC-Restriktion bezeichnet. (Kalden J. und Eger G. 2010; Waßmuth 2005; Kaufmann 2009; Königshoff et al. 2018)

HLA Moleküle werden in zwei Klassen eingeteilt, da sie sowohl strukturelle als auch funktionale Unterschiede, bezogen auf die jeweiligen Präsentationswege aufweisen. HLA-Klasse-I-Moleküle präsentieren intrazelluläre Antigene und interagieren mit CD8⁺-zytotoxische T-Lymphozyten. (Kalden J. und Eger G. 2010; Hof und Schlüter 2019; Waßmuth 2005) Diese körpereigenen intrazellulären Faktoren sind unter anderem auch Neoantigene, welche von Krebszellen gebildet werden. Diese Tumorantigene werden von Proteasomen abgebaut, in das endoplasmatische Retikulum transportiert und bilden

dort einen Komplex mit ausgereiften HLA-Klasse-I-Molekülen. Dieser Komplex wird an die Zelloberfläche transportiert und dort von CD8⁺-T-Zellen erkannt. (Renner et al. 2010)

HLA-Klasse-II-Moleküle nehmen extrazelluläre Proteine durch Endo- oder Phagozytose auf, präsentieren diese und interagieren mit CD4⁺-T-Lymphozyten. (Kalden J. und Eger G. 2010; Hof und Schlüter 2019; Waßmuth 2005)

HLA-Moleküle sind höchst polymorph und werden als Heterodimere an der Zelloberfläche exprimiert. Die Gene des HLA-Komplexes befinden sich beim Menschen auf dem kurzen Arm des 6. Chromosoms (6p21.1-6p21.3) mit etwa 3500 Kilobasenpaaren. Man unterscheidet je nach Genabschnitt die Klasse I, II und III. (Waßmuth 2005)

Da in der vorliegenden Arbeit die Expression von HLA-Klasse I in den Proben untersucht wurde, wird im weiteren Verlauf genauer auf diese Klasse eingegangen:

HLA-Klasse-I-Moleküle kommen auf beinahe allen kernhaltigen Zellen des Körpers vor. Es werden drei verschiedene Moleküle (HLA-A, -B und -C, benannt nach ihrem Genort) hinsichtlich der Struktur der Peptidbindungsstelle unterschieden. Durch die kodominante Expression (mütterliche und väterliche Klasse-I-Moleküle) kommen auf kernhaltigen Zellen sechs HLA-Klasse-I-Moleküle vor, welche jeweils unterschiedliche Peptide binden. (Hof und Schlüter 2019; Waßmuth 2005)

Gene der HLA-Klasse I liegen auf der telomeren Seite des Komplexes und sind sowohl funktionale Gene als auch Pseudogene (Waßmuth 2005).

Die Domänenstruktur der HLA-Klasse-I-Heterodimere besteht aus einer schweren polymorphen α -Kette (Molekulargewicht 45 kDa) und einer leichten β -Kette (Molekulargewicht 11,5 kDa), dem stabilisierenden β_2 -Mikroglobulin. Dessen Gen liegt auf dem menschlichen Chromosom 15. Neben einer Transmembranregion und einem zytosolischen Anteil, weist die α -Kette drei extrazelluläre Domänen (α_1 , α_2 , α_3) mit jeweils ca. 90 Aminosäuren auf. Die α_1 - und α_2 -Domänen lagern sich als Wände der Antigenbindungsstelle zusammen, welche in der Lage ist, Proteinfragmente mit einer Länge von acht bis elf Aminosäuren zu binden. (Hof und Schlüter 2019; Waßmuth 2005; Königshoff et al. 2018)

Wie oben beschrieben ist jedes antigenpräsentierende HLA-Molekül mit einer Antigenbindungsstelle ausgestattet. Für die Funktion der antigenabhängigen T-Lymphozytenaktivierung ist es wichtig, dass prozessierte Proteine unabhängig der jeweiligen Struktur gebunden werden können. Grundlage hierfür ist ein ausgeprägter allelischer Polymorphismus innerhalb der hypervariablen Region der DNA. (Waßmuth 2005)

Kommt es zu einem Expressionsverlust von HLA-Klasse I auf Tumorzellen, können diese einer Immunantwort entgehen. (Waßmuth 2005)

1.9.2 Einführung: Tumorinfiltrierende Lymphozyten (TILs)

Histopathologisch ist das OSCC charakterisiert durch die Infiltration von unterschiedlichen Entzündungszellen (hauptsächlich T-Zellen) in das Stroma, sowie das Epithel. Diese Zellen werden auch tumorinfiltrierende Lymphozyten (TILs) genannt. Ihnen wird eine regulatorische Funktion bei der Antitumorimmunität zugesprochen. (Lee et al. 2011)

Daher gewinnt neben dem TNM-System die Klassifizierung einer Krebserkrankung durch spezifische Informationen des TME zunehmend an Bedeutung. So hat man herausgefunden, dass TILs Auswirkungen auf die klinischen Eigenschaften von Krebspatienten haben. (Galon et al. 2014; Fridman et al. 2012; Motz und Coukos 2013; Chen et al. 2018; Zhang et al. 2019)

Immunzellen kommen bei allen Tumorarten in einer erhöhten Anzahl innerhalb des Tumorgewebes vor. Durch geeignete Färbungen können tumorinfiltrierende Zellen detektiert und durch ihre Analyse prognostische Aussagen getroffen werden. TILs lassen sich in der Regel leichter quantifizieren als Tumormarker, da etablierte Marker für die Lymphozyten zur Verfügung stehen. Alle Subgruppen von T-Zellen sind sowohl innerhalb des Tumorzentrums als auch an der Invasionsfront von oralen Plattenepithelkarzinomen zu finden. Eine getrennte Auswertung dieser Regionen steigerte die Genauigkeit der Überlebensvorhersage der Patienten. Ebenso wird in der Literatur ein Zusammenhang von Anzahl und Art der TILs mit der Prognose der Patienten beschrieben. Für OSCC lässt sich einerseits eine positive Wirkung des Immuninfiltrates ableiten, andererseits wurden auch negative Einflüsse beobachtet. (Galon et al. 2014; Fridman et al. 2012; Motz und Coukos 2013; Chen et al. 2018)

An diese Ergebnisse anknüpfend wurden in der vorliegenden Arbeit 66 OSCC-Proben in Zusammenhang mit CD3⁺-, CD4⁺-, CD8⁺-, FOXP3⁺- und IL-17A⁺-Lymphozyten untersucht und ausgewertet.

1.9.2.1 CD3⁺-Lymphozyten

Im Thymus entwickeln sich aus lymphoiden Vorläuferzellen die T-Lymphozyten (Lakshmi Narendra et al. 2013). Als CD3⁺-Lymphozyten werden reife T-Zellen bezeichnet, welche membranständige CD3-Moleküle als charakteristisches Antigen tragen. CD steht für cluster of differentiation und beschreibt bestimmte Differenzierungsantigene von Leukozyten. Die CD3-Moleküle dienen als generelles Erkennungsmerkmal aller T-Lymphozyten und sind zudem für die Aktivierung von antigenspezifischen T-Zellen verantwortlich: Nach Antigenerkennung ist der T-Zellrezeptor (TCR) allein nicht in der Lage eine intrazelluläre Signaltransduktion auslösen. (Galon et al. 2014; Kaufmann 2009)

Durch die Assoziation mit den Transmembranproteinen des CD3-Komplexes wird eine Signalweiterleitung erst möglich. Dieser Komplex setzt sich aus einer δ -, zwei ε - und einer γ -Polypeptidkette zusammen, zudem sind zwei ζ -Ketten an die gesamte Einheit angelagert. Wird ein Antigen erkannt, findet innerhalb kürzester Zeit eine Phosphorylierung von zytoplasmatischen Anteilen der CD3-Moleküle durch Tyrosinkinase der src-Familie (lck, fyn) statt. Dieser Vorgang setzt eine Kaskade von Tyrosinphosphorylierungen unterschiedlicher Proteine innerhalb der Zelle in Gang, welche durch Aktivierung weiterer Kinasen stattfindet. Das Ziel dieser Signalwege ist wiederum die Aktivierung von Transkriptionsfaktoren, die Produktion von Zytokinen, welche die Proliferation und Aktivierung von T-Zellen anregen und eine Kaskade von Immuneffektorzellen auszulösen. Zudem erfolgt die Expression von Interleukin-2-Rezeptoren. Interleukin-2 spielt eine Rolle bei dem Wachstum von T- und B-Zellen, sowie natürlichen Killerzellen und damit bei der suffizienten Immunantwort des Körpers. (Hof und Schlüter 2019; Fleischer 2010)

CD3⁺-Lymphozyten scheinen einen Einfluss auf die Immunantwort bei Tumoren und damit auf die Überlebensprognose der Patienten zu haben. (Galon et al. 2014)

1.9.2.2 CD4⁺-Lymphozyten

Trägt eine T-Zelle das CD4-Molekül auf ihrer Oberfläche, so wird sie als CD4⁺-T-Zelle oder T-Helferzelle (T_H-Zelle) bezeichnet. Sie spielt eine unterstützende Rolle in der Immunantwort, indem sie Zytokine bildet, welche wiederum weitere T-Zellen aktivieren. Helferzellen lassen sich in weitere Untergruppen unterteilen, wie unter anderem in die T_{H1}-, T_{H2}- und T_{H17}-Zellen. T_{H1}-Zellen bilden Interleukin-2 (IL-2), Interferon- γ sowie Tumornekrosefaktor- α . Ihre Aufgabe besteht in der Aktivierung anderer T- und antigenpräsentierender Zellen, wie z.B. zytotoxische T-Zellen und Makrophagen. Damit nehmen sie eine Schlüsselrolle in der zellvermittelten Immunantwort ein. T_{H2}-Zellen bilden IL-4, -5, -6, -10 und -13. Sie induzieren die humorale Immunantwort durch Aktivierung von B-Zellen, welche dann als Plasmazellen Antikörper freisetzen. Sie aktivieren zudem Eosinophile mit antitumoralen Eigenschaften. T_{H1}- und T_{H2}-Zellen unterdrücken sich gegenseitig in ihrer Funktion. T_{H17}-Zellen aktivieren neutrophile Granulozyten und exprimieren unter anderem IL-17A. (Kaufmann 2009; Königshoff et al. 2018; Protti et al. 2014)

Eine weitere Subgruppe der CD4⁺-Lymphozyten stellen sogenannte regulatorische T-Zellen (T_{reg}) dar. Sie produzieren inhibitorische Zytokine (IL-10 und Transforming growth factor beta (TGF- β)) und unterdrücken die Immunantwort von T-Zellen. Neben CD25 exprimieren T_{regs} den Transkriptionsfaktor FOXP3 und sind keine klassische T-Helferzellen. Ungefähr 6-10% der peripheren CD4⁺-Lymphozyten lassen sich dieser Untergruppe zuordnen. (Renner et al. 2010; Kaufmann 2009; Königshoff et al. 2018; Protti et al. 2014)

Die Aktivierung der Zielzellen durch die jeweilige Helferzelle erfolgt durch lösliche Botenstoffe wie Zytokine bzw. Interleukine. Zytokine sind nicht antigenspezifisch, sondern aktivieren gewisse Einzelfunktionen der Zielzelle. IL-17 wird zum Beispiel von T_{H17} -Zellen gebildet und löst von Neutrophilen geprägte Entzündungen aus. (Kaufmann 2009)

Wie oben bereits erwähnt können $CD4^+$ -Lymphozyten Fremdartigene nur im Zusammenhang mit körpereigenem HLA-II erkennen (Hof und Schlüter 2019; Kaufmann 2009).

Das CD4-Molekül ist als Monomer mit vier extrazellulären Immunglobulindomänen (D1-4), einem transmembranösen Anteil und einem zytoplasmatischen Fortsatz aufgebaut. Letzterer Anteil ist an der Signalübermittlung nach Antigenkontakt beteiligt. Es erfolgt eine Signaltransduktion in den Zellkern und schlussendlich die Aktivierung von Transkriptionsfaktoren. Diese bewirken wiederum eine Expression von Genen, welche für die Regulation des Aktivierungszustandes der T-Zelle verantwortlich sind. (Hof und Schlüter 2019)

Da $CD4^+$ -Lymphozyten an der Steuerung aller antigenspezifischen Immunantworten beteiligt sind, wurden sie in den letzten Jahren vermehrt im Zusammenhang mit der Tumormunologie untersucht (Protti et al. 2014).

Der Einfluss von $CD4^+$ -T-Zellen auf die Prognose von Tumorerkrankungen wird kontrovers diskutiert, da jeder Subpopulation eine andere Funktion zugeschrieben wird, durch ihre unterschiedliche Zytokin-Ausschüttung. (Renner et al. 2010; Protti et al. 2014; Fang et al. 2017)

1.9.2.3 $CD8^+$ -Lymphozyten

Zytotoxische T-Zellen (CTL) sind $CD3^+$ - $CD8^+$ -T-Zellen und differenzieren sich nach antigenspezifischer Aktivierung. Sie sind in der Lage ihre, von Pathogenen befallenen, Zielzellen zu zerstören. Dies tun sie, indem sie durch Ausschüttung von Perforin die Lyse einer Zelle herbeiführen. Exprimieren Zellen auf ihrer Oberfläche das Fas-Protein, kann die CTL mittels eines Liganden an dieses Protein binden und die Apoptose der Zelle auslösen. Damit sind $CD8^+$ -Lymphozyten an der Tumorüberwachung beteiligt. Wird eine Tumorzelle durch spezielle Antigene erkannt, induzieren $CD8^+$ -Lymphozyten die Abtötung der malignen Zellen. (Kaufmann 2009; Königshoff et al. 2018; Protti et al. 2014; Hof und Schlüter 2019)

Ihre Aktivierung erfolgt über $CD4^+$ -Lymphozyten: zusammen mit HLA-Klasse II, Antigen und IL-12 werden T_{H1} -Zellen zur Produktion von IL-2 angeregt. IL-2 aktiviert wiederum mit dem HLA-Klasse-I-Molekül und gebundenen Antigen die $CD8$ -T-Zellen zu zytotoxischen T-Zellen. (Kaufmann 2009)

Aufgebaut sind CD8-Moleküle als Heterodimere mit einer α - und einer β -Kette, mit jeweils einer Ig-Domäne. Für die Signalübertragung nach Kontakt mit Antigen und dem HLA-Klasse-I-Molekül ist der zytoplasmatische Anteil der α -Kette verantwortlich und erfolgt analog zu CD4. (Hof und Schlüter 2019)

In der Literatur werden CD8⁺-T-Lymphozyten als prognostisch günstige Marker für Tumorerkrankungen beschrieben und scheinen Einfluss auf die Immunantwort bei OSCC zu haben. CTLs kommen sowohl im Tumorzentrum als auch an der Invasionsfront vor (Galon et al. 2014; Fang et al. 2017; Protti et al. 2014; Fridman et al. 2012; Shimizu et al. 2019; Motz und Coukos 2013).

1.9.2.4 Regulatorische T-Zellen und Forkhead-Box-Protein P3 (FOXP3)

Regulatorische T-Zellen (T_{reg}) sind eine Subpopulation von CD4⁺-T-Zellen, welche als charakteristischen Marker neben CD25 den Transkriptionsfaktor FOXP3 aufweisen (CD4⁺-CD25⁺-FOXP3⁺-Lymphozyten) (Fridman et al. 2012). FOXP3 wird auf dem X-Chromosom codiert und ist unerlässlich für die Entwicklung und Funktion der regulatorischen T-Zellen (Liu et al. 2016).

T_{regs} können die (antitumorale) Immunantwort unterdrücken, indem sie immunsuppressive Zytokine wie IL-10 ausschütten und immunstimulierende Zytokine wie INF- γ hemmen (Renner et al. 2010; Liu et al. 2016; Fridman et al. 2012; Fleischer 2010; Zou und Restifo 2010). Sie differenzieren unter dem Einfluss von TGF- β und schütten diesen ebenfalls aus (Hof und Schlüter 2019; Protti et al. 2014). Es wird vermutet, dass T_{regs} die Reichweite, Beständigkeit und Qualität der Immunantwort durch eine negative Regulation pathologischer und physiologischer Immunreaktionen beeinflussen. Kommt es zu einer übermäßigen Aktivität von regulatorischen T-Zellen können Immunschwäche, chronische Infektionen und die Entstehung von Krebs gefördert werden. Eine verringerte Aktivität wird mit Autoimmunreaktionen in Zusammenhang gebracht. (Renner et al. 2010; Hof und Schlüter 2019; Liu et al. 2016)

In der Literatur wird FoxP3 als prognostischer Marker für Tumorerkrankungen beschrieben. Der Einfluss auf die Prognose wird kontrovers diskutiert und scheint abhängig von der Art des Tumors zu sein. (Galon et al. 2014; Gentles et al. 2015; Protti et al. 2014)

1.9.2.5 T_{H17}-Zellen und Interleukin-17A (IL-17A)

Interleukine sind von Leukozyten produzierte Mediatoren (Fleischer 2010). Interleukin-17A wird von T_{H17}-Zellen (CD4⁺-IL-17A⁺-T-Zellen) exprimiert und dient damit als Marker für diese Zellart (Iwakura et al. 2008). IL-17A gehört neben 5 weiteren Interleukinen (IL-17B-F) zur IL-17-Familie und ist an einer Vielzahl von Immunsteuerungsprozessen beteiligt (Iwakura et al. 2008; Aggarwal und Gurney 2002). Es fördert die Proliferation von T-Zellen, induziert unter anderem die Produktion von proinflammatorischen Zytokinen

und Chemokinen (wie IL-6) und fördert vor allem die neutrophile Entzündung. T_{H17}-Zellen sind seit einigen Jahren als eigenständige Untergruppe der Helferzellen bekannt und neben Entzündungsprozessen an der Infektabwehr extrazellulärer Pathogene und Autoimmunerkrankungen beteiligt. Sie machen ca. 0,1-0,5% der zirkulierenden CD4⁺-T-Zellen aus. (Iwakura et al. 2008; Kaufmann 2009; Wang et al. 2009; Zou und Restifo 2010; Lakshmi Narendra et al. 2013)

IL-17A steht im Zusammenhang mit schlechtem Überleben bei Patienten mit anderen Krebsarten (z.B. Eierstock- oder Lungenkrebs). Die Untersuchungen von OSCC auf diese TIL-Subgruppe rückt daher zunehmend in den Fokus der Tumorforschung, um den Zusammenhang besser zu verstehen. (Li et al. 2015)

In Studien wurde gezeigt, dass T_{H17}-Zellen vermehrt im Tumorgewebe vorkommen, so dass davon ausgegangen wird, dass dieser Zelltyp in die TME rekrutiert werden kann. In der Regel sind sie in einer niedrigeren Anzahl als andere T-Zell-Subtypen im Tumorgewebe vorhanden. Die Rolle von T_{H17}-Zellen und IL-17A im Rahmen der Tumorummunologie wird kontrovers diskutiert. Ihnen wird zum einen eine mögliche indirekte antitumorale Aktivität zugesprochen, zum Beispiel indem T_{H17}-Zellen den Transport von Effektor-T-Zellen in die TME fördern. Zudem unterdrückt die Expression von IL-17 die Tumprogression bei Mäusen. (Zou und Restifo 2010)

Zum anderen wirkt IL-17A auf Endothel-, Stroma- und Tumorzellen und könnten das Tumorstadium durch IL-6-Induktion fördern. Die jeweilige Funktion scheint stark von der Krebsart abhängig zu sein. (Zou und Restifo 2010; Wang et al. 2009; Protti et al. 2014)

2 Zielsetzung

Da das orale Plattenepithelkarzinom noch immer mit einer hohen Mortalitätsrate einhergeht, rücken neue Behandlungsansätze, wie zum Beispiel die Immuntherapie, vermehrt in den Fokus. Ein besseres Verständnis des immunologischen Tumormikromilieus beim oralen Plattenepithelkarzinom ist maßgeblich, um eine individuelle Therapie für den Patienten entwickeln zu können. Eine frühe Diagnosestellung, sowie eine auf den Patienten abgestimmte Therapie ist für die Prognose entscheidend. Mit Hilfe der Auswertung der Kohorte soll analysiert werden, ob es Zusammenhänge zwischen der Zusammensetzung des Milieus und vorhersagbaren Prognoseparametern gibt. Ziel dieser Arbeit ist es

- die Zusammensetzung und klinische Auswirkungen des immunologischen Tumormikromilieus zu analysieren
- Prognoseparameter aus den Ergebnissen abzuleiten
- einen Beitrag zu verbesserten Therapieansätzen, bzw. der gezielten Immuntherapie bei Patienten mit oralem Plattenepithelkarzinom zu leisten
- die Lebensqualität und -dauer der Patienten möglicherweise zu verbessern

3 Material und Methoden

3.1 Studienpatienten und klinisch-pathologische Daten

Für die vorliegende Arbeit wurden Gewebeproben von 66 Patienten mit einem oralen Plattenepithelkarzinom untersucht. Die Therapie erfolgte, mittels einer chirurgischen Resektion des Primärtumors, zwischen 2008 und 2012 am Klinikum Rechts der Isar der Technischen Universität München, Deutschland. Die Behandlung folgte dabei, wie bereits beschrieben, der deutschen Leitlinie für OSCC (Wolff et al. 2021).

Es galten folgende Aufnahmekriterien:

1. Bei Diagnosestellung durften keine Fernmetastasen vorliegen (cM0)
2. Es musste sich um einen therapienaiven Tumor handeln, d.h. es wurde keine neoadjuvante Therapie durchgeführt
3. Vollständiger Zugang zu demographischen und klinischen Follow-up Daten

Es wurde ausschließlich primäres, therapienaives Tumormaterial analysiert. Gewebeproben aus Lymphknoten- oder Fernmetastasen, sowie Rezidiven fanden keine Verwendung. Die Analysen erfolgten an formalin-fixiertem, paraffin-eingebettetem Gewebe (FFPE) der Resektionspräparate, die aus dem Archiv des Institutes für Pathologie der TU München im Rahmen der Routinediagnostik entnommen wurden.

Die retrospektive Studie erhielt die Genehmigung von der Ethikkommission der Technischen Universität München (Referenznummer 296/17).

Bei der Kohorte handelte es sich um 42 (=63,6%) männliche (m) und 24 (=36,4%) weibliche (w) Patienten. Das Medianalter der Diagnose lag bei 62 Jahren; der jüngste Patient war zu diesem Zeitpunkt 45 und der Älteste 87 Jahre alt.

23 Patienten (34,8%) erlitten ein Lokal-, Nodal-, und/oder Fernrezidiv während der Nachsorgezeit. 28 (42,4%) Patienten verstarben, wovon 21 (31,8%) Patienten ihrer Krebserkrankung erlagen. Im Durchschnitt betrug die Nachsorgezeit der noch lebenden Patienten 48 Monate, die Variationsbreite lag dabei zwischen 6-97 Monaten. Die durchschnittliche Nachsorgezeit für die verstorbenen Patienten lag bei 19 Monaten (Variationsbreite 2-90 Monate).

Zunächst wurde das FFPE-Material der Resektionspräparate reevaluiert und das histologische Grading (G1, G2, G3) nach der Klassifikation der World Health Organization (WHO) für Tumoren im Kopf- und Halsbereich aus dem Jahr 2017 vorgenommen (El-Naggar et al. 2017). Die Einteilung erfolgte in nicht-verhornte, verhornte und basaloide Histotypen. Des Weiteren wurde die perineurale Invasion (Pn1), sowie die Lymphangio-

invasion (L1) als an- bzw. abwesend beurteilt. Das Staging wurde nach der TNM Klassifikation maligner Tumoren (7. Ausgabe) der Union internationale contre le cancer (UICC) durchgeführt (Wittekind 2010). Patienten mit fortgeschrittenen UICC-Stadien (III/IV_{a/b}) dominierten die Gruppe (42/66; 63,6%).

Eine detaillierte Darstellung der klinisch-pathologischen Parameter findet sich in Tabelle 3.

Diagnosealter	Median: 62 (45-87)	Fälle 66	Prozentsatz 100%
Geschlecht	w	24	36,4%
	m	42	63,6%
pT	1	24	36,4%
	2	19	28,8%
	3	4	6,1%
	4a/b	19	28,8%
pN	0	33	50,0%
	1	10	15,2%
	2a/b/c	23	34,8%
UICC	I	17	25,8%
	II	7	10,6%
	III	8	12,1%
	IV	34	51,5%
Grading	G1	7	10,6%
	G2	42	63,6%
	G3	17	25,8%
Pn1	ja	21	31,8%
	nein	45	68,2%
L1	ja	11	16,7%

	nein	55	83,3%
Rezidiv	kein Rezidiv	43	65,2%
	mit Rezidiv	23	34,8%
	lokal	15	22,7%
	nodal	9	13,6%
	Fern	5	7,6%
Überlebensstatus	lebend	38	57,6%
	verstorben (tumorabhängig)	21	31,8%
	verstorben (tumor-unabhängig)	3	4,5%
	verstorben (unbekannt)	4	6,1%

Tabelle 3: Verteilung der klinisch- und histopathologischen Parameter

3.2 Technische Ausstattung und Materialien für die immunhistochemische Analysen

3.2.1 (Technische) Laborausstattung

BenchMark XT IHC/ISH Färbemodul, Ventana Medical Systems, Roche, Arizona, United States

XT ultraView Universal DAB, Ventana Medical Systems, Roche, Arizona, United States

LCS (Predilute), Ventana Medical Systems, Roche, Arizona, United States

BOND RXm, Leica Biosystems, Newcastle, United Kingdom

BOND Polymer Refine Detection, Leica Biosystems, Newcastle, United Kingdom

BOND Polymer Refine Red Detection, Leica Biosystems, Newcastle, United Kingdom

3.2.2 Antikörper

3.2.2.1 Primäre Antikörper

Anti-HLA Class 1 ABC antibody (ab70328)

Hersteller: Abcam, Cambridge, United Kingdom

Clone: EMR8-5

Verdünnung: 1:15.000

Anti-CD3 Rabbit Monoclonal Antibody

Hersteller: Cell Marque, Darmstadt, Germany

Clone: MRQ39

Verdünnung: 1:500

Anti-CD4 antibody (ab67001)

Hersteller: Abcam, Cambridge, United Kingdom

Clone: 1F6

Verdünnung: 1:50

Monoclonal Mouse Anti-Human CD8

Hersteller: DAKO, Glostrup, Denmark

Clone: C8/144B

Verdünnung: 1:50

Anti-FOXP3 antibody (ab20034)

Hersteller: Abcam, Cambridge, United Kingdom

Clone: 236A/E7

Verdünnung: 1:200

Human IL17A Antibody

Hersteller: R&D Systems, Minneapolis, USA

Clone: AF-317-NA

Verdünnung: 1:2000

3.2.2.2 Sekundäre Antikörper

Jeweils im XT ultraView Universal DAB, BOND Polymer Refine Detection und BOND Polymer Refine Red Detection Kit enthalten.

3.3 Laborverfahren und Immunhistochemie

Die FFPE-Tumorproben der 66 Patienten mit OSCC aus dem Zeitraum 2008 bis 2012 stammen aus dem Archiv des Instituts für Pathologie der TUM. Sie entstammen aus OP-Präparaten und wurden im Rahmen der Routinediagnostik aufgearbeitet und archiviert.

Die Aufbereitung und Immunhistochemie der Proben erfolgten in der Einheit für Vergleichende experimentelle Pathologie der Technischen Universität München (TUM) unter der Leitung von Frau Dr. Katja Steiger.

3.3.1 TMA-Erstellung

Aus den Resektionspräparaten wurde ein repräsentativer tumor-tragender Block ausgewählt auf dem Tumorzentrum und Invasionsfront enthalten waren. Es wurden, sofern möglich, je zwei tumortragende Bereiche der Invasionsfront und zwei Areale aus dem Tumorzentrum markiert und zu Tissue Microarrays (TMAs) (Beecher Instruments, Sun Prairie, USA) zusammengefasst (Abbildung 1). Der Durchmesser der Stanzzyylinder betrug 0,6 mm. Dabei werden eine Vielzahl von Patientenproben in einem FFPE-Block zusammengestellt und können entsprechend auf einem Objektträger abgebildet werden. Dies ermöglicht eine effiziente Färbung und Analyse. Mit Hilfe eines Belegungsplanes kann jeder Position das entsprechende Präparat zugeordnet werden.

In 61 Fällen war es möglich Tumorgewebe aus der Invasionsfront einzubringen und in 55 Fällen Gewebe aus dem Tumorzentrum. In 50 Fällen konnte sowohl Gewebe der Invasionsfront als auch aus dem Tumorzentrum gewonnen werden. Limitierend war hierbei die Größe der Karzinome.

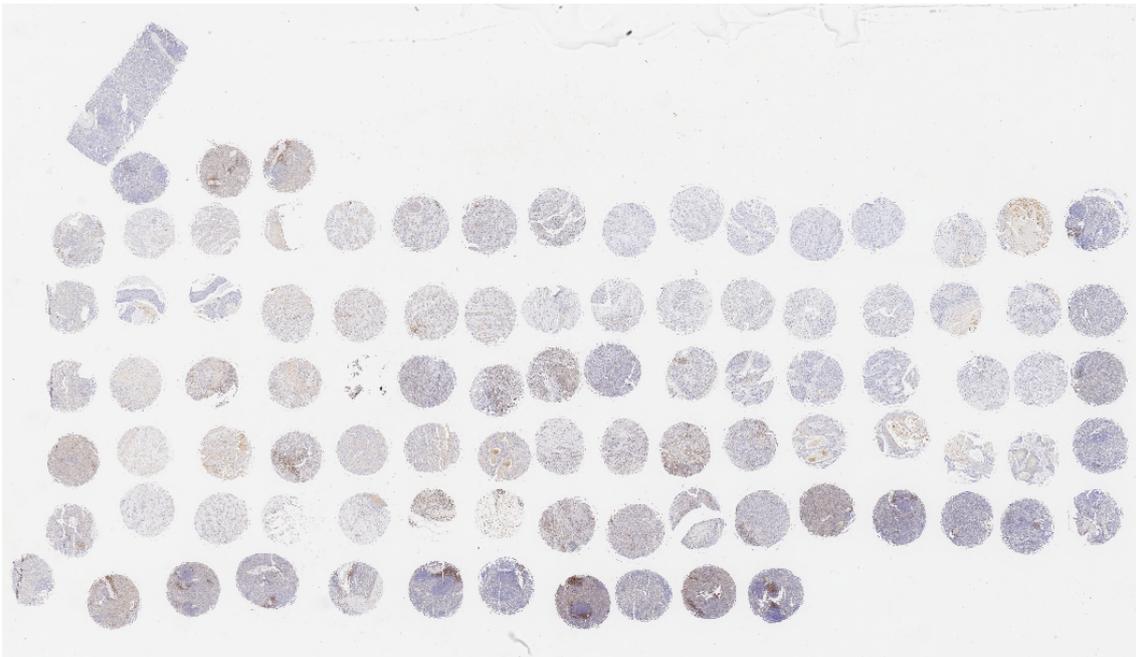


Abbildung 1: Repräsentatives Beispiel eines TMAs (ohne Vergrößerung)

3.3.2 Immunhistochemische Färbung

Für die Auswertung des Tumormikromilieus wurden immunhistochemische Färbungen (IHC) an den TMAs der 66 Patienten durchgeführt. Die Färbungen wurden an 2 µm dicken Schnitten ausgeführt. Die IHC dient mithilfe von spezifischen Antikörpern zum Nachweis von Antigenen in Gewebe und Zellen. Ziel der Färbung war es CD3⁺-T-Zellen, CD4⁺-T-Helferzellen, CD8⁺-zytotoxische-T-Zellen, CD4⁺-FOXP3⁺-regulatorische-T-Zellen, sowie IL-17A⁺-T_{H17}-Zellen zu markieren und auswerten zu können.

Der automatisierte Färbeprozess für CD3, CD8 und HLA-Klasse I wurde gemäß dem Protokoll im BenchMark XT Färbemodul mittels des XT ultraView DAB Detection Kits durchgeführt. Entsprechende positive und negative immunhistochemische Färbekontrollen liefen für jede Färbung der genannten IHC parallel um unspezifische/fehlerhafte Färbungen auszuschließen. Zusätzlich erfolgte eine Isotyp-Kontrollfärbung gegen IgG1 (Maus IgG1 Isotyp-Kontrolle; Thermo Fisher; MA5-14453).

Für die automatisierte Färbung erfolgte zunächst die Entparaffinierung in absteigender Alkoholreihe, um das Paraffin im Gewebe durch Wasser zu ersetzen. Die anschließende Hitzebehandlung, sowie die Behandlung mit Citratpuffer bei 60°C diente der Demaskierung der Antigene. Die Blockade der endogenen Peroxidase zum Ausschluss falsch positiver Ergebnisse erfolgte mittels 3% Wasserstoffperoxidlösung (H₂O₂). Im nächsten Schritt wurde der jeweilige (primäre) Antikörper für CD3, CD8 und HLA-Klasse I aufgetragen und bei Raumtemperatur inkubiert. Daraufhin erfolgte der Auftrag des Sekundärantikörpers in Form des ultraView Universal HRP (Meerrettichperoxidase) Multimer,

einer Mischung aus HRP-markierten Antikörpern, welche die zu untersuchenden Primärantikörper lokalisierte. Des Weiteren wurde das DAB Chromogen, 0,04% H₂O₂, sowie ein Kupfersulfat-enthaltender Cooper beigefügt, um den Komplex als braunes Präzipitat erkennbar zu machen. Im Anschluss erfolgte die Gegenfärbung mit Hämatoxylin und der Auftrag von LCS (liquid coverslip), einer vorverdünnten Eindecklösung, welche als Barriere zwischen wässrigen Reagenzien und der Luft diente. Nach einer 8-minütigen Inkubationszeit folgte die Kontrastfärbung mittels Blueing Reagent und der erneute Auftrag von LCS, sowie eine 4-minütige Inkubationszeit bei Raumtemperatur. Zum Entwässern durchliefen die Objektträger dann eine aufsteigende Alkoholreihe und Xylol, um im Anschluss eingedeckt werden zu können.

Die automatisierte Färbung für CD4, FOXP3 und IL17A erfolgte analog zum zuvor beschriebenen Prozess im BOND RXm System, sowie mit einem BOND Polymer Refine Detection Kit (Leica) gemäß dem jeweiligen Protokoll

Das Färbeprotokoll des BOND RXm System ist Tabelle 4 zu entnehmen.

Reagenz	Temperatur	Inkubationszeit (Min)
Peroxidase Block (3-4% H ₂ O ₂)	Umgebung	5:00
Primärer Antikörper	Umgebung	15:00
Post Primary (Kaninchen-anti-Maus-IgG); gültig für CD4 und FOXP3	Umgebung	8:00
Rabbit anti Goat unkonjugiert; gültig für IL17A	Umgebung	30:00
Polymer (Anti-Kaninchen-Poly-HRP-IgG)	Umgebung	8:00
DAB Part 1 (3-3'-Diaminobenzindintetrahydrochlorid)	Umgebung	0:00
DAB Part B (≤0,1% H ₂ O ₂)	Umgebung	10:00
Hematoxylin (<0,1% Hämatoxylin)	Umgebung	5:00

Tabelle 4: Färbeprotokoll (BOND RXm System)

Ein Waschschrift mit geeignetem Waschpuffer erfolgte in allen Fällen nach jeder Inkubation, um überschüssiges Material zu entfernen.

Des Weiteren wurde eine serielle Doppelfärbung der TMAs von CD4 und FOXP3 vorgenommen, um eine Koexpression aufzuzeigen und somit regulatorische T-Zellen zu identifizieren. Dafür wurden das Bond RXm System (Leica) mit primären Antikörpern gegen CD4, dem BOND Polymer Refine Detection Kit (Chromogen DAB; Leica), primäre Antikörper gegen FOXP3, sowie das BOND Polymer Refine Detection Kit (Chromogen: Fast-Red, Gegenfärbung: Hämatoxylin; Leica) genutzt.

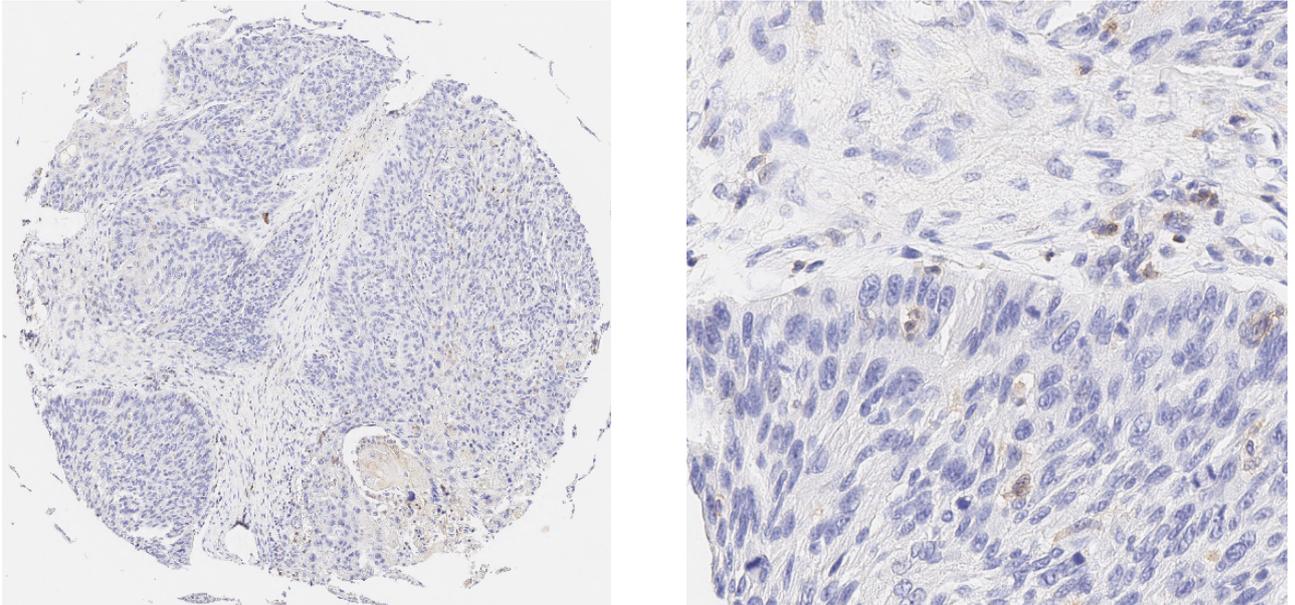


Abbildung 2: Repräsentatives Beispiel für eine geringe Infiltration (Vergrößerung links: 4x, Vergrößerung rechts 20x)

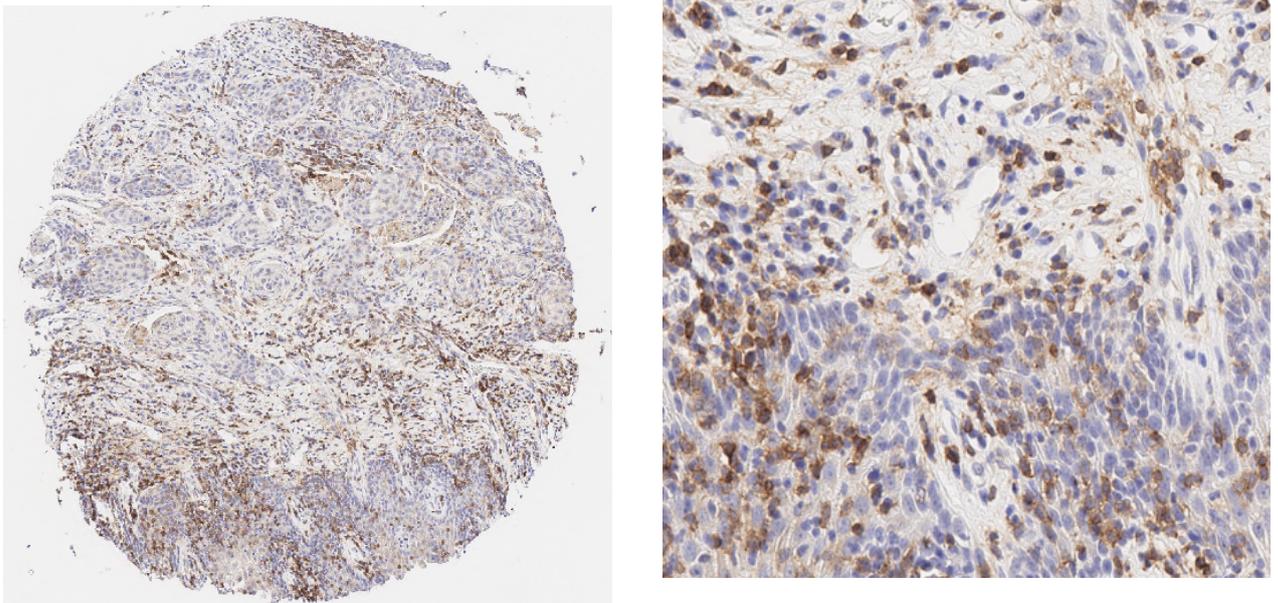


Abbildung 3: Repräsentatives Beispiel für eine starke Infiltration (Vergrößerung links: 4x, Vergrößerung rechts: 20x)

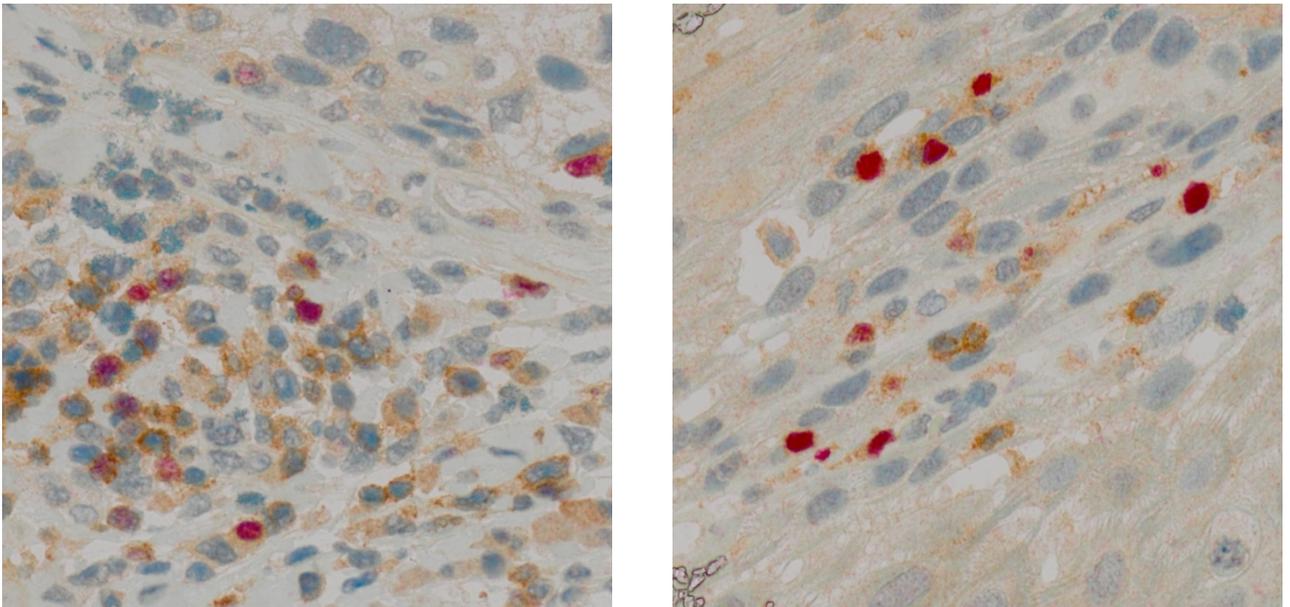


Abbildung 4: Repräsentatives Beispiel der Doppelfärbung zur Identifizierung von Tregs durch Koexpression (Vergrößerung jeweils 20x)

3.4 Auswertung

Die Auswertung der gefärbten und eingescannten Präparate erfolgte mittels des Programms *Aperio ImageScope* 12.3,

3.4.1 Quantifizierung und räumlich aufgelöste Auswertung der tumorinfiltrierenden Lymphozyten

Die Färbung für CD3, CD4, CD8 und IL-17A wurde als positiv (CD3⁺, CD4⁺...) gewertet, wenn eine Membranfärbung beliebiger Intensität vorlag. Eine positive Färbung für FOXP3 war gegeben, wenn die Lymphozytenkerne angefärbt wurden. Ein positives Ergebnis lag bei Doppelfärbung der Lymphozyten mit rotkernigem FOXP3 und brauner Membranfärbung von CD4 vor.

Andere Immunzellen, wie Granulozyten, Makrophagen und Plasmazellen, wurden bei unspezifischer Färbung nicht berücksichtigt. Weiterhin wurden Granulozyten, welche IL-17A exprimieren von der Auswertung ausgeschlossen. Die Unterscheidung der jeweiligen Immunzellpopulationen erfolgte hierbei auf Basis der Morphologie.

Die tumorinfiltrierenden Lymphozyten (CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, FOXP3⁺, IL-17A⁺) wurden jeweils separat im Tumorzentrum und an der Invasionsfront analysiert. Tumorproben eines Falles und Lokalisation (Tumorzentrum, Invasionsfront) wurden zunächst jeweils einzeln analysiert und zu einem Mittelwert für die jeweilige Lokalisation zusammengefasst. Die Auswertung erfolgte intraepithelial innerhalb der neoplastischen Plattenepithelverbände und im Tumorstroma.

Intraepithelial wurde die Tumorregion mit der höchsten Dichte der jeweiligen TIL-Untergruppe mit geringer Vergrößerung (4x) ausgewählt und die absolute Menge der TILs auf 100 Tumorzellen manuell in hoher Vergrößerung (40x) bestimmt (CD3i, CD4i, CD8i, FOXP3i, IL17Ai – in Anlehnung an Jesinghaus et al. (2017)).

Stromal wurde die Dichte von TILs über die prozentuale Bedeckung des Stromas der jeweiligen TIL-Untergruppe bestimmt (CD3s, CD4s, CD8s, FOXP3s, IL17As – in Anlehnung an Buisseret et al.; Fehrenbacher et al. (2017; 2016)).

3.4.2 Einteilung in Wertungsgruppen

Darüber hinaus wurden die entsprechenden Absolut Werte der TIL-Untergruppen, sowie die Verhältnisse nach ihrem jeweiligen Perzentil eingeteilt. Es wurde das 33. und 66. Perzentil jedes immunologischen Parameters bestimmt und 3 Untergruppen in Abhängigkeit vom entsprechenden Perzentil vorgenommen: niedriges (< 33. Perzentil), mittleres (33.-66. Perzentil) und oberes (>66. Perzentil) Drittel. Des Weiteren gelten die Fälle des unteren Drittels als „niedrig“ (z.B. CD4^{i^{low}}) und die Fälle des mittleren, sowie oberen Drittels als „hoch“ (z.B. CD4^{i^{high}}).

Die Berechnung der Verhältnisse der TIL-Populationen zueinander wurden für jede Tumorregion (Tumorzentrum/Invasionsfront) in absoluten Zahlen wie folgt vorgenommen: CD8:CD3; CD8:CD4; CD8:FOXP3; CD8:IL17A; FOXP3:CD3; FOXP3:CD4; FOXP3:IL17A; CD4:CD3; CD4:IL17A. Die Einordnung in Wertungsgruppen erfolgte entsprechend des o.g. Vorgehens für die TIL-Populationen.

3.4.3 HLA-Klasse I

Eine positive HLA-Klasse I Färbung lag ausschließlich membranständig vor. Für die Auswertung wurde ein modifizierter H-Score verwendet, welcher ursprünglich für Immunreaktionen von Östrogen- und Progesteronrezeptoren bei Brustkrebs Verwendung findet (Remmele und Stegner 1987). Die Auswertungen für die Invasionsfront und das Tumorzentrum fanden jeweils separat statt. Es wurde ein zweistufiges Bewertungssystem abhängig von der Färbungsintensität (SI) festgelegt: +1 für eine schwache SI, 2+ für eine starke SI. Zusätzlich wurde der Prozentsatz der positiven Tumorzellen (PC) angegeben und die Ergebnisse von SI und PC multipliziert. Aus diesem Wert ergab sich dann der Immunreaktions-Wert (IRS) mit Werten zwischen 0 und 200. Auch hier erfolgte die Einteilung analog dem Vorgehen der TIL-Populationen (s.o.) in die entsprechenden Wertungsgruppen.

3.5 Statistik

Für die statistische Auswertung wurde das Programm SPSS 25 (SPSS Inc., Chicago, IL, United States) für Windows verwendet. Die Verteilung der qualitativen Daten zwischen den Gruppen wurde mittels χ^2 -Test oder exaktem Test nach Fisher ermittelt. Die Zusammenhänge zwischen den kontinuierlichen Variablen wurden mit dem Korrelationskoeffizienten nach Pearson analysiert. Die nichtparametrische Spearman-Rho-Korrelation wurde für die Variablen der Ordinalskala genutzt. Mit der Kaplan-Meier-Methode wurde die Überlebenswahrscheinlichkeit ermittelt und mittels des Log-Rank-Tests die Signifikanz der unterschiedlichen Überlebenswahrscheinlichkeiten geprüft. Die multivariable Überlebenszeitanalyse wurde mit dem Cox Proportional-Hazards Modell ausgeführt. Alle statistischen Tests wurden mit einem exploratorischen zweiseitigem Signifikanzniveau von 5% durchgeführt.

4 Ergebnisse

4.1 Tumorinfiltrierende Lymphozyten

4.1.1 Zusammensetzung der TIL-Populationen an der Invasionsfront (IF)

Die Quantifizierung der TILs an der Invasionsfront wurde intraepithelial und stromal separat durchgeführt. Folgende Ergebnisse wurden für die intraepithelialen TILs (absolute Anzahl der entsprechenden TIL / 100 neoplastischen Zellen) ermittelt: CD3⁺ TILs (CD3i): Spannweite 0-70/100, Median 11; CD4⁺ TILs (CD4i): Spannweite 0-21/100, Median 5; CD8⁺ TILs (CD8i): Spannweite 0-60/100, Median 6; FOXP3⁺ TILs (FOXP3i): Spannweite 0-20/100, Median 3 und IL-17A⁺ TILs (IL-17Ai): Spannweite 0-22/100, Median 2. Tabelle 5 zeigt die oben genannten Werte.

TILs	Spannweite	Median
CD3 ⁺ TILs (CD3i)	0-70/100	11
CD4 ⁺ TILs (CD4i)	0-21/100	5
CD8 ⁺ TILs (CD8i)	0-60/100	6
FOXP3 ⁺ TILs (FoxP3i)	0-20/100	3
IL-17A ⁺ TILs (IL-17Ai)	0-22/100	2

Tabelle 5: Zusammensetzung intraepithelialer TILs an der IF

Bezogen auf die Dichte der TILs, welche das Stroma innerhalb der Invasionsfront bedecken, konnten folgende Werte bestimmt werden: CD3⁺ TILs (CD3s): Spannweite 0,5-80,0%, Median 30,0%; CD4⁺ TILs (CD4s): Spannweite 0,0-80,0%, Median 15,0%; CD8⁺ TILs (CD8s): Spannweite 0,5-65,0%, Median 11,0%; FOXP3⁺ TILs (FOXP3s): Spannweite 0,5-45,0%, Median 10,0% und IL-17A⁺ TILs (IL17As): Spannweite 0,0-25,0%, Median 2,0%. Die Ergebnisse sind in Tabelle 6 zusammenfasst.

TILs	Spannweite	Median
CD3 ⁺ TILs (CD3s)	0,5-80,0%	30,0%
CD4 ⁺ TILs (CD4s)	0,0-80,0%	15,0%
CD8 ⁺ TILs (CD8s)	0,5-65,0%	11,0%
FOXP3 ⁺ TILs (FoxP3s)	0,5-45,0%	10,0%
IL-17A ⁺ TILs (IL-17As)	0,0-25,0%	2,0%

Tabelle 6: Zusammensetzung der Infiltrationsdichte stromaler TILs an der IF

4.1.2 Zusammensetzung der TIL-Populationen im der Tumorzentrum (TZe)

Die Quantifizierung der TILs im Tumorzentrum erfolgte analog zur IF. Die Ergebnisse bezogen auf das Epithel waren dabei wie folgt: CD3⁺ (TILs) CD3i: Spannweite 0-70/100, Median 12; CD4⁺ TILs (CD4i): Spannweite 0-33/100, Median 5; CD8⁺ TILs (CD8i):

Spannweite 0-60/100, Median 7; FOXP3⁺ TILs (FOXP3i): Spannweite 0-30/100, Median 4 und IL-17A⁺ TILs (IL-17Ai): Spannweite 0-42/100, Median 2. Tabelle 7 zeigt die oben genannten Werte.

TILs	Spannweite	Median
CD3 ⁺ TILs (CD3i)	0-70/100	12
CD4 ⁺ TILs (CD4i)	0-33/100	5
CD8 ⁺ TILs (CD8i)	0-60/100	7
FOXP3 ⁺ TILs (FoxP3i)	0-30/100	4
IL-17A ⁺ TILs (IL-17Ai)	0-42/100	2

Tabelle 7: Zusammensetzung intraepithelialer TILs im TZe

Die Auswertung der Dichte der TILs innerhalb des Stromas ergab folgende Ergebnisse: CD3⁺ TILs (CD3s): Spannweite 0,5-80,0%, Median 30,0%; CD4⁺ TILs (CD4s): Spannweite 1,0-50,0%, Median 10,0%; CD8⁺ TILs (CD8s): Spannweite 0,0-70,0%, Median 10,0%; FOXP3⁺ TILs (FOXP3s): Spannweite 0,5-40,0%, Median 8,0% und IL-17A⁺ TILs (IL-17As): Spannweite 0,0-40,0%, Median 1,0%. Die genannten Werte sind in Tabelle 8 zusammenfasst.

TILs	Range	Median
CD3 ⁺ TILs (CD3s)	0,5-80,0%	30,0%
CD4 ⁺ TILs (CD4s)	1,0-50,0%	10,0%
CD8 ⁺ TILs (CD8s)	0,0-70,0%	10,0%
FOXP3 ⁺ TILs (FoxP3s)	0,5-40,0%	8,0%
IL-17A ⁺ TILs (IL-17As)	0,0-40,0%	1,0%

Tabelle 8: Zusammensetzung der Infiltrationsdichte stromaler TIL im TZe

4.1.3 Wertungsgruppen

Wie in Material und Methoden beschrieben, wurden die absoluten Ergebnisse in Wertungsgruppen („low“ versus „high“) unterteilt. Die Kategorisierung erfolgte separat für das Epithel und das Stroma.

Bezogen auf das Epithel lag die Verteilung der CD3i⁺ TILs an der Invasionsfront in 19/62 Fällen (30,6%) im niedrigen und in 43/62 Fällen (69,4%) im hohen Wertungsbereich. Im Tumorzentrum lagen 20/57 Fälle (35,1%) im unteren Drittel und 37/57 Fälle (64,9%) im mittleren und oberen Drittel. Die Auswertung der CD4i⁺ TILs an der IF ergab, dass 14/60 Fälle (23,3%) zur niedrigen Wertungsgruppen zählten und 46/60 Fälle (76,7%) zur hohen Wertungsgruppe. Innerhalb des Tumorzentrums lag die Verteilung bei 14/52 Fällen (26,9%) im niedrigen Drittel und 38/52 Fälle (73,1%) innerhalb der oberen beiden Drittel. Bezogen auf die CD8i⁺ TILs zählten 25/62 Fälle (40,3%) an der IF zum niedrigen, und

37/62 Fälle (59,7%) zum hohen Wertungsbereich. Im Tumorzentrum lag die Verteilung bei 17/57 Fällen (29,8%) im unteren Drittel und in 40/57 Fällen (70,2%) im mittleren und oberen Drittel. Bezogen auf die FOXP3i⁺ TILs der IF ließen sich 16/62 Fälle (25,8%) in die niedrige und 46/62 Fälle (74,2%) in die hohe Wertungsgruppe einordnen. Im Tumorzentrum waren 10/57 Fälle (17,5%) dem unteren Drittel und 47/57 Fälle (82,5%) dem mittleren und oberen Drittel zuzuordnen. Die Auswertung der IL-17Ai⁺ TILs ergab für die Invasionsfront, dass 21/60 Fälle (35,0%) im niedrigen Bereich und 39/60 Fälle (65,0%) im hohen Wertungsbereich lagen. Im TZe fielen 25/52 Fälle (48,1%) in die niedrige und 27/52 Fälle (51,9%) in die hohe Wertungsgruppe.

Stromal lag an der IF in 22/62 Fällen (35,5%) eine geringe Dichte von CD3s⁺ TILs vor, in 40/62 Fällen (64,5%) konnte eine hohe Dichte dieser TILs ermittelt werden. Im Tumorzentrum lagen 15/57 Fälle (26,3%) im unteren Drittel, sowie 42/57 Fälle (73,7%) im mittleren und oberen Drittel. Bezogen auf die CD4s⁺ TILs der IF war das Stroma in 14/60 Fällen (23,3%) mit einer geringen Dichte der TIL-Untergruppe bedeckt, 46/60 Fälle (76,7%) wiesen eine hohe Dichte auf. Im Tumorzentrum fielen 13/51 Fälle (25,5%) in die niedrige Wertungsgruppe und 39/51 Fälle (74,5%) in die hohe Wertungsgruppe. In 23/62 Fällen (37,1%) lag eine geringe Dichte von CD8s⁺ TILs an der IF vor und in 39/62 Fällen (62,9%) eine hohe Dichte. Bezogen auf das TZe fielen 17/57 Fälle (29,8%) in die niedrige Wertungsgruppe und 40/57 Fälle (70,2%) in die hohe Wertungsgruppe. FOXP3s⁺ TILs bedeckten an der IF in 13/62 Fällen (21,0%) das Stroma mit niedriger und in 49/62 Fällen (79,0%) mit hoher Dichte. Innerhalb des Tumorzentrums lag die Verteilung in 17/57 Fällen (29,8%) im niedrigen und in 40/57 Fällen (70,2%) im hohen Wertungsbereich. IL-17As⁺ TILs wurden in 26/58 Fällen (44,8%) mit einer geringen Stromalen Dichte aufgefunden, bei 32/58 Fällen (55,2%) lag eine hohe Dichte vor. Im Tumorzentrum lagen 27/52 Fälle (51,9%) im unteren Drittel und 25/52 Fälle (48,1%) im mittleren und oberen Drittel.

Übersichten der Verteilung der Gruppen CD3i^{high}/CD3i^{low}, CD4i^{high}/CD4i^{low}, CD8i^{high}/CD8i^{low}, FOXP3i^{high}/FOXP3i^{low}, IL-17Ai^{high}/IL-17Ai^{low}, CD3s^{high}/CD3s^{low}, CD4s^{high}/CD4s^{low}, CD8s^{high}/CD8s^{low}, FOXP3s^{high}/FOXP3s^{low}, IL-17As^{high}/IL-17As^{low} jeweils bezogen auf die Invasionsfront bzw. das Tumorzentrum sind in Tabelle 9 und 10 dargestellt.

TILs	IF/TZe	Gesamt	Low (TIL ^{low})	Low (%)	High (TIL ^{high})	High (%)
CD3i ⁺ TILs	IF	62	19	30,6	43	69,4
	TZe	57	20	35,1	37	64,9
CD4i ⁺ TILs	IF	60	14	23,3	46	76,7
	TZe	52	14	26,9	38	73,1

Ergebnisse

CD8i ⁺ TILs	IF	62	25	40,3	37	59,7
	TZe	57	17	29,8	40	70,2
FOXP3i ⁺ TILs	IF	62	16	25,8	46	74,2
	TZe	57	10	17,5	47	82,5
IL-17Ai ⁺ TILs	IF	60	21	35,0	39	65,0
	TZe	52	25	48,1	27	51,9

Tabelle 9: Wertungsgruppen Epithel

TILs	IF/TZe	Gesamt	Low (TIL ^{low})	Low (%)	High (TIL ^{high})	High (%)
CD3s ⁺ TILs	IF	62	22	35,5	40	64,5
	TZe	57	15	26,3	42	73,7
CD4s ⁺ TILs	IF	60	14	23,3	46	76,7
	TZe	51	13	25,5	38	74,5
CD8s ⁺ TILs	IF	62	23	37,1	39	62,9
	TZe	57	17	29,8	40	70,2
FOXP3s ⁺ TILs	IF	62	13	21,0	49	79,0
	TZe	57	17	29,8	40	70,2
IL-17As ⁺ TILs	IF	58	26	44,8	32	55,2
	TZe	52	27	51,9	25	48,1

Tabelle 10: Wertungsgruppen Stroma

4.1.4 HLA-Klasse-I-Expression (ABC) in OSCC

Die Expression von HLA-Klasse I war, bezogen auf die Invasionsfront, in 17/62 Fällen (27,4%) gering und in 45/62 Fällen (62,6%) stark. Innerhalb des Tumorzentrums lag eine geringe HLA-Klasse-I-Expression in 17/57 Fällen (29,8%) und eine starke Expression in 40/57 Fällen (70,2%) vor.

4.1.5 Verhältnisse der TIL-Untergruppen

Anschließend wurde die Infiltrationsdichte der jeweiligen TIL Populationen zueinander ins Verhältnis gesetzt und jeweils für die IF und das TZe wie folgt berechnet: CD8i:CD3i; CD8s:CD3s; CD8i:CD4i; CD8s:CD4s; CD8i:FOXP3i; CD8s:FOXP3s; CD8i:IL-17Ai; CD8s:IL-17As; FOXP3i:CD3i; FOXP3s:CD3s; FOXP3i:CD4i; FOXP3s:CD4s; FOXP3i:IL-17Ai; FOXP3s:IL-17As; CD4i:CD3i; CD4s:CD3s; CD4i:IL-17Ai; CD4s:IL-17As.

Die absoluten Werte und resultierende Wertungsgruppen (high/low) sind in Tabelle 11 dargestellt.

Untergruppen (TILs)	IF/ TZe	TIL Verhältnisse (Absolutwerte)			Wertungsgruppen (TIL Verhältnisse)			
		Median	Minimum	Maximum	Low (n)	Low (%)	High (n)	High (%)
CD8i:CD3i	IF	0,57	0,00	1,50	20	32,8	41	67,2
	TZe	0,57	0,00	3,00	18	32,7	37	67,3
CD8s:CD3s	IF	0,54	0,02	5,00	19	30,6	43	69,4
	TZe	0,47	0,00	5,00	17	29,8	40	70,2
CD8i:CD4i	IF	1,33	0,00	30,00	21	35,6	38	64,4
	TZe	1,40	0,00	50,00	17	32,7	35	67,3
CD8s:CD4s	IF	1,00	0,02	35,00	22	37,3	37	62,7
	TZe	1,00	0,00	40,00	17	32,7	35	67,3
CD8i:FOXP3i	IF	1,50	0,00	17,50	21	36,2	37	63,8
	TZe	1,45	0,00	18,00	18	38,3	29	61,7
CD8s:FOXP3s	IF	1,06	0,04	25,00	20	32,3	42	67,7
	TZe	1,00	0,00	80,00	20	35,1	37	64,9
CD8i:IL-17Ai	IF	2,83	0,00	60,00	18	32,1	38	67,9
	TZe	4,00	0,00	50,00	15	31,9	32	68,1
CD8s:IL-17As	IF	4,75	0,05	65,00	19	32,8	39	67,2
	TZe	4,00	0,00	65,00	21	40,4	31	59,6
FOXP3i:CD3i	IF	0,29	0,00	2,50	19	31,1	42	68,9
	TZe	0,27	0,00	1,50	18	32,1	38	67,9
FOXP3s:CD3s	IF	0,33	0,02	5,00	20	32,3	42	67,7
	TZe	0,40	0,01	7,00	21	36,8	36	63,2
FOXP3i:CD4i	IF	0,60	0,00	15,00	17	32,1	36	67,9
	TZe	0,85	0,00	20,00	23	39,0	36	61,0
FOXP3s:CD4s	IF	0,80	0,03	25,00	19	32,2	40	67,8
	TZe	1,00	0,03	22,00	21	41,2	30	58,8
FOXP3i:IL-17Ai	IF	1,50	0,00	10,00	25	44,6	31	55,4
	TZe	2,00	0,00	30,00	16	33,3	32	66,7
FOXP3s:IL-17As	IF	3,67	0,10	25,00	19	32,8	39	67,2
	TZe	3,00	0,03	30,00	17	33,3	34	66,7
CD4i:CD3i	IF	0,33	0,03	4,00	19	32,2	40	67,8

Ergebnisse

	TZe	0,36	0,00	4,00	21	42,0	29	58,0
CD4s:CD3s	IF	0,50	0,00	6,00	19	31,7	41	68,3
	TZe	0,40	0,03	5,00	18	35,3	33	64,7
CD4i:IL-17Ai	IF	2,00	0,17	21,00	25	44,6	31	55,4
	TZe	2,25	0,00	23,00	15	32,6	31	67,4
CD4s:IL-17As	IF	4,00	0,00	40,00	19	32,8	39	67,2
	TZe	4,00	0,13	25,00	18	36,0	32	64,0

Tabelle 11: Verhältnisse der TIL-Subgruppen und resultierende Wertungsgruppen für IF und TZe

4.2 Korrelation der immunologischen Parameter miteinander

Die immunologischen Parameter wurden jeweils für die Invasionsfront und das Tumorzentrum miteinander korreliert.

An der Invasionsfront korrelierte eine geringe HLA-Klasse-I-Expression signifikant mit einer geringen Anzahl an intraepitheliale CD3 ($p=0,022$), CD8 ($p=0,023$), FOXP3 ($p=0,003$), sowie einer geringen Dichte von Stromalen CD4-TILs ($p=0,024$). Die Dichte der übrigen TILs war unabhängig von der HLA-Klasse-I-Expression.

Positive Korrelationen waren für die TIL-Subgruppen untereinander festzustellen. So war an der IF eine geringe Dichte an CD3i mit einer geringen Dichte von CD3s ($p=0,002$), CD4i ($p=0,041$), CD4s ($p=0,006$), CD8i ($p<0,001$), CD8s ($p=0,007$), FOXP3i ($p=0,012$), FOXP3s ($p=0,046$), IL-17Ai ($p=0,002$) und IL-17As ($p=0,004$) assoziiert. CD3s wurde positiv mit CD4i ($p<0,001$), CD4s ($p<0,001$), CD8s ($p=0,007$), FOXP3i ($p=0,010$) und FOXP3s ($p=0,031$) korreliert. Des Weiteren wurde ein signifikanter Zusammenhang zwischen CD4i und CD4s ($p<0,001$), CD8s ($p=0,014$) und FOXP3i ($p=0,001$) beobachtet. Eine geringe Dichte von CD4s hatte zudem eine geringe Dichte von CD3s ($p=0,034$), CD4i ($p=0,014$), FOXP3i ($p=0,001$) sowie IL-17As ($p=0,021$) zur Folge. CD8i zeigte einen signifikanten positiven Zusammenhang mit FOXP3i ($p=0,10$), ebenso wie CD8s mit FOXP3i ($p=0,003$) und IL-17As ($p=0,011$). FOXP3i ($p<0,001$), FOXP3s ($p=0,003$) und IL-17As ($p=0,005$) wurden jeweils positiv mit IL-17Ai korreliert. Zwischen den übrigen TIL-Subgruppen konnten keine signifikanten Zusammenhänge beobachtet werden.

Die oben genannten und alle weiteren Ergebnisse sind ausführlich im Anhang dargestellt. Signifikante Ergebnisse sind kursiv und fett markiert.

Ähnliche Ergebnisse zur Invasionsfront ließen sich im Tumorzentrum feststellen: So war die hohe HLA-Klasse-I-Expression hier signifikant mit einer hohen Dichte von intraepithelialelem CD3 ($p=0,002$), CD8 ($p<0,001$) und IL-17A ($p=0,004$), sowie stromalem CD8 ($p=0,025$) verknüpft.

Ebenfalls waren die TIL-Subgruppen im Tumorzentrum dicht miteinander verwoben: Für CD3i zeigte sich eine positive Korrelation mit CD3s ($p=0,005$), CD4s ($p=0,043$), CD8i ($p<0,001$), CD8s ($p<0,001$), FOXP3i ($p=0,024$), IL-17Ai ($p=0,048$) und IL-17As ($p=0,007$). Eine geringe Dichte von CD3s war signifikant mit einer geringen Dichte von CD4s ($p=0,001$), CD8i ($p=0,005$), CD8s ($p<0,001$) und FOXP3s ($p=0,001$) assoziiert. Gleiches konnte für CD4i im Zusammenhang mit CD4s ($p=0,001$), CD8i ($p=0,005$), CD8s ($p<0,001$) sowie FOXP3s ($p=0,001$) festgestellt werden. Eine geringe Anzahl von stromalen CD4-TILs hatte eine geringe Anzahl von stromalen CD8- ($p=0,013$) und FOXP3-TILs ($p=0,006$) zur Folge. Bezüglich CD8i wurde eine signifikante Wechselbeziehung mit CD8s ($p<0,001$), FOXP3i ($p=0,031$) sowie IL-17Ai ($p=0,001$) beobachtet. CD8s wurde signifikant mit FOXP3i ($p=0,005$), FOXP3s ($p=0,025$) und IL-17As ($p=0,019$) korreliert. Eine geringe Dichte von stromalem IL-17A konnte mit einer geringen Dichte von IL-17A ($p=0,031$) in Zusammenhang gebracht werden. Zwischen den übrigen TIL-Subgruppen wurden keine signifikanten Zusammenhänge beobachtet.

Die oben genannten und alle weiteren Ergebnisse sind ausführlich im Anhang dargestellt. Kursiv und fett markierte Tabellen stellen signifikante Ergebnisse dar.

4.3 Immunologische Parameter in Korrelation mit klinikpathologischen und histopathologischen Daten

Die immunologischen Parameter wurden mit den klinischen- und histopathologischen Daten korreliert, welche das mediane Alter, das Geschlecht, das pT- und pN-Stadium, das UICC-Stadium, das Grading, die perineurale Invasion (Pn1) und die Lymphangiosis (L1) umfassten. Die Invasionsfront und das Tumorzentrum wurden separat analysiert.

Zwischen dem medianen Alter der Kohorte, sowie dem Geschlecht konnte weder an der IF, noch im TZe ein signifikanter Zusammenhang zu immunologischen Parametern festgestellt werden. Patienten mit FOXP3i^{high} Karzinomen wiesen zum Diagnosezeitpunkt ein geringeres pT-Stadium auf. Dies galt für die Invasionsfront ($p=0,021$), als auch für das Tumorzentrum ($p=0,004$). Ebenso wurden Karzinome mit FOXP3s^{high} im Tumorzentrum mit einem geringeren pT-Status ($p=0,018$) bei Diagnose aufgefunden. Karzinome der IF mit CD4i^{high} wiesen ein signifikant geringeres pN- ($p=0,027$) und UICC-Stadium ($p=0,005$) auf als Karzinome mit einer geringen Dichte an intraepithelialelem CD4. OSCC

mit CD3^{high} zeigten im TZe ($p=0,038$) ein geringeres UICC-Stadium zum Diagnosezeitpunkt als OSCC mit CD3^{low}. Darüber hinaus waren OSCC mit einer geringen Dichte an CD8i an der IF schlechter differenziert ($p=0,041$) als solche mit einer hohen Dichte von CD8i. Unabhängig von der Lokalisation wurden bei OSCC mit FOXP3s^{high} weniger Fälle mit Lymphgefäßinvasion ($p=0,015$ [IF]; $p=0,002$ [TZe]) beobachtet. Bei Patienten mit CD8i^{low} (IF) wurde im Vergleich eine erhöhte perineurale Invasion ($p=0,022$) beobachtet. Darüber hinaus waren bei FOXP3s^{high} (TZe) weniger Fälle mit einer perineuralen Invasion dokumentiert ($p=0,041$). Es wurden keine weiteren signifikanten Zusammenhänge zwischen den Parametern beobachtet.

Die oben genannten und alle weiteren Ergebnisse sind ausführlich im Anhang dargestellt. Signifikante Ergebnisse sind fett und kursiv markiert.

4.4 Verhältnisse der TIL-Subgruppen in Korrelation mit klinikpathologischen und histopathologischen Daten

Analog zu den einzelnen TIL-Subgruppen wurden die kalkulierten Verhältnisse mit den klinik- und histopathologischen Daten korreliert. Die Auswertung erfolgte ebenfalls separat für IF und TZe, sowie für das Stroma und das Epithel.

Ein geringes pT-Stadium war mit einem hohen intraepithelialen Verhältnis von FOXP3 zu CD3 ($p=0,013$), sowie FOXP3i:CD4i ($P=0,047$) und FOXP3i:IL-17Ai ($p=0,004$) an der IF assoziiert. Gleiches ließ sich für das FOXP3i:IL-17Ai-Verhältnis (IF) bezogen auf das UICC-Stadium beobachten ($p=0,007$). Weniger Fälle einer perineuralen Invasion waren bei einem hohen Verhältnis von CD8i zu CD4i an der IF verzeichnet ($p=0,034$). Eine geringere Rate von positiver Lymphgefäßinvasion war an ein niedriges CD4i:IL17-Ai-Verhältnis (IF) ($p=0,033$) gekoppelt. Weitere signifikante Ergebnisse innerhalb des Epithels an der IF konnten nicht ermittelt werden.

Ein niedriges stromales CD8:FOXP3-Verhältnis ($p=0,023$) und CD8:IL-17A-Verhältnis ($p=0,008$) an der IF war signifikant mit dem männlichen Geschlecht verknüpft. Ein niedriges FOXP3s:CD4s-Verhältnis (IF) war mit einem geringeren pT-Stadium ($p=0,003$) assoziiert. Ein hohes stromales CD8:CD4-Verhältnis an der IF wiesen eine niedrigere Anzahl an hohem pN-Stadium ($p=0,019$) und eine verringerte Pn1-Anzahl ($p=0,034$) auf. Darüber hinaus wurden weniger Fälle von perineuraler Invasion bei einem niedrigen CD4s:IL-17As-Verhältnis (IF) ($p=0,034$) beobachtet. Es wurden keine weiteren signifikanten Ergebnisse an der Invasionsfront bezogen auf das Stroma festgestellt.

Bezogen auf das Epithel innerhalb des Tumorzentrums war ein niedriges Verhältnis von CD8:FOXP3 signifikant mit dem Alter unterhalb des Medians von 62 Jahren

($p=0,036$) verknüpft. Umgekehrt korrelierte ein hohes FOXP3:CD3-Verhältnis mit einem niedrigeren Alter ($p=0,047$). Ein hohes intraepitheliales FOXP3:CD4-Verhältnis war mit einem geringeren pT- Stadium ($p=0,005$) assoziiert. Darüber hinaus war das pN-Stadium niedriger bei hohem FOXP3i:CD3i- ($p=0,033$) und FOXP3i:CD4i-Verhältnis ($p=0,034$). Ein geringes UICC-Stadium war mit einem hohen Verhältnis von FOXP3i zu CD4i ($p=0,015$) assoziiert. Die L1-Rate war höher ($p=0,022$) bei einem hohen Verhältnis von FOXP3 zu CD3 als bei einem niedrigen Verhältnis. Weitere signifikante Ergebnisse innerhalb des Epithels im TZe konnten nicht ermittelt werden.

Bei einem niedrigeren CD8s:IL-17As-Verhältnis waren mehr Männer vom OSCC betroffen ($p=0,017$), pT- ($p=0,014$) und UICC-Stadium ($p=0,020$) waren bei niedrigem Verhältnis höher. Im Tumorzentrum war ein hohes stromales CD8:CD4-Verhältnis an ein niedrigeres pT- ($p=0,007$) und geringeres UICC-Stadium ($p=0,026$) geknüpft. L1 trat bei hohem FOXP3s:CD3s- ($p=0,028$), FOXP3s:CD4s- ($p=0,001$), sowie FOXP3s:IL-17As-Verhältnis ($p=0,001$) seltener auf als bei niedrigen Verhältnissen. Es wurden keine weiteren signifikanten Ergebnisse im Tumorzentrum bezogen auf das Stroma festgestellt. Eine detaillierte Darstellung aller Ergebnisse befindet sich im Anhang.

4.5 Überlebenszeit in Korrelation mit immunologischen Parametern

Mittels der Kaplan-Meier-Kurve und des Log-Rank-Tests wurden ermittelt, ob die analysierten immunologischen Parameter einen signifikanten Einfluss auf die Prognose der Patienten bezogen auf Gesamtüberleben (OS), tumorspezifisches Überleben (DSS) und krankheitsfreies Überleben (DFS) hatten.

Eine hohe Dichte an FOXP3 innerhalb des Stromas der Invasionsfront wurde signifikant mit einer längeren Überlebenszeit korreliert: mittleres Gesamtüberleben (OS): 63,9 Monate ($p=0,035$), mittleres krankheitsspezifisches Überleben (DSS): 74,1 Monate ($p=0,012$) und mittleres krankheitsfreies Überleben (DFS): 71,4 Monate ($p=0,005$). Im Gegensatz dazu betrug das mittlere OS bei einer geringen FOXP3s Dichte an der IF 28,9 Monate (DSS: 30,1 Monate, DFS: 28,9 Monate).

Die günstige Prognose galt ebenfalls für Karzinome mit FOXP3s^{high} innerhalb des Tumorzentrums. Hier lag das durchschnittliche OS bei 60,1 Monaten ($p=0,023$), DSS bei 68,3 Monaten ($p=0,016$), sowie DFS bei 65,4 Monaten ($p=0,027$). Im Vergleich war das Überleben bei Patienten mit FOXP3s^{low} wie folgt: OS: 40,3 Monate, DSS: 46,8 Monate und DFS: 46,1 Monate.

Mittels der multivarianten Cox-Regression wurde überprüft, ob die prognostische Signifikanz unabhängig von weiteren möglichen Einflussfaktoren (Alter, Geschlecht, pT- und pN-Stadium, Grading) war. FOXP3s an der IF stellte einen signifikant unabhängigen

Prognosefaktor bezüglich des DSS (Hazard Ratio (HR): 2,8; $p=0,046$) und des DFS (HR: 3,1; $p=0,021$) dar. Im Tumorzentrum war FOXP3s unabhängig von den genannten Parametern bezogen auf das OS (HR: 2,8; $p=0,049$), das DSS (HR: 5,1; $p=0,015$) und das DFS (HR: 3,7; $p=0,035$).

Es wurden keine weiteren signifikanten Korrelationen zwischen Überlebenszeit und immunologischen Parametern beobachtet. Die oben genannten Ergebnisse, sowie alle Weiteren, finden sich im Anhang.

Abbildungen 5-10 zeigen die jeweiligen Kaplan-Meier-Kurven (OS, DSS, DFS) der signifikanten Ergebnisse.

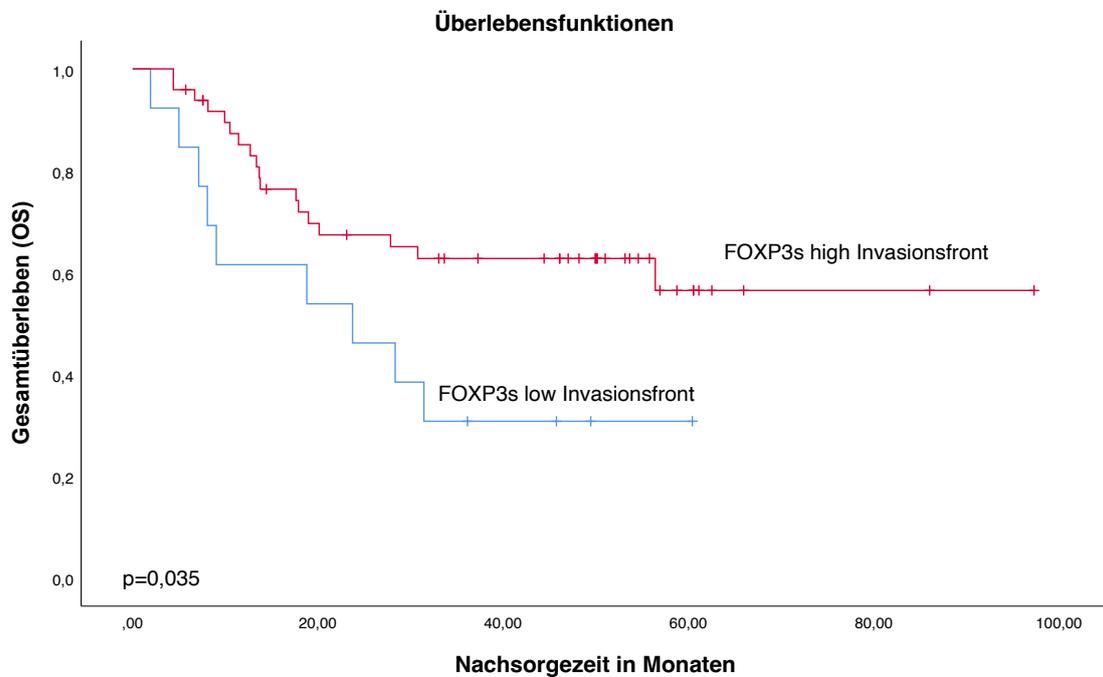


Abbildung 5: Überlebenskurven nach Kaplan-Meier - Gegenüberstellung von FOXP3s^{high} und FOXP3s^{low} an der IF bezogen auf das OS

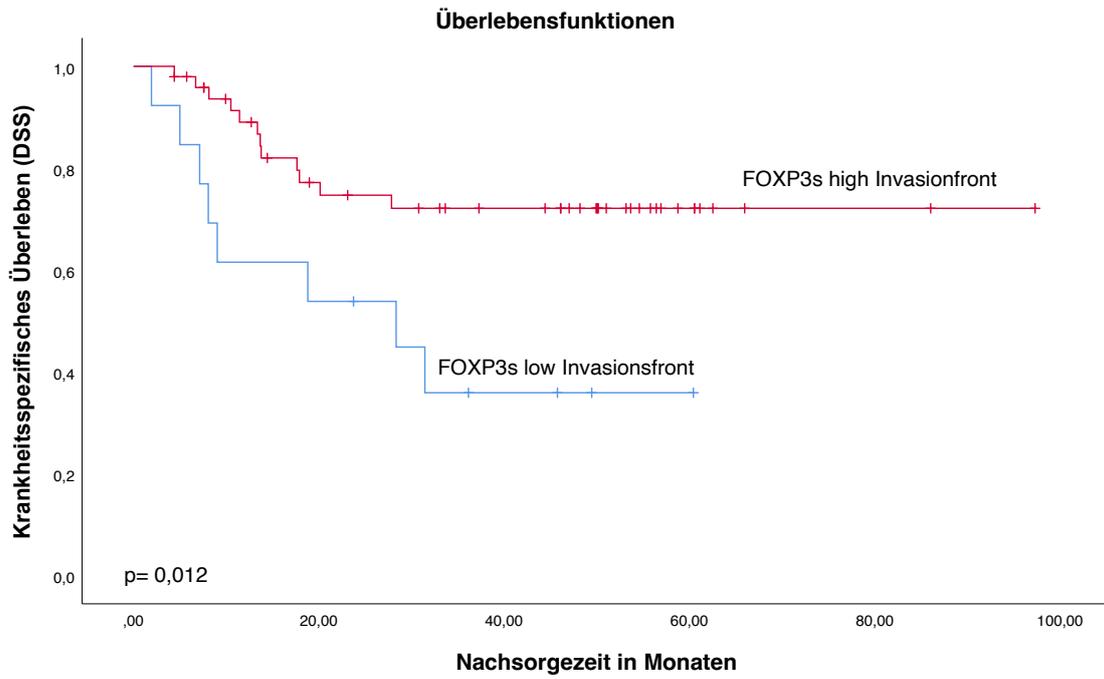


Abbildung 6: Überlebenskurven nach Kaplan-Meier - Gegenüberstellung von $FOXP3s^{high}$ und $FOXP3s^{low}$ an der IF bezogen auf das DSS

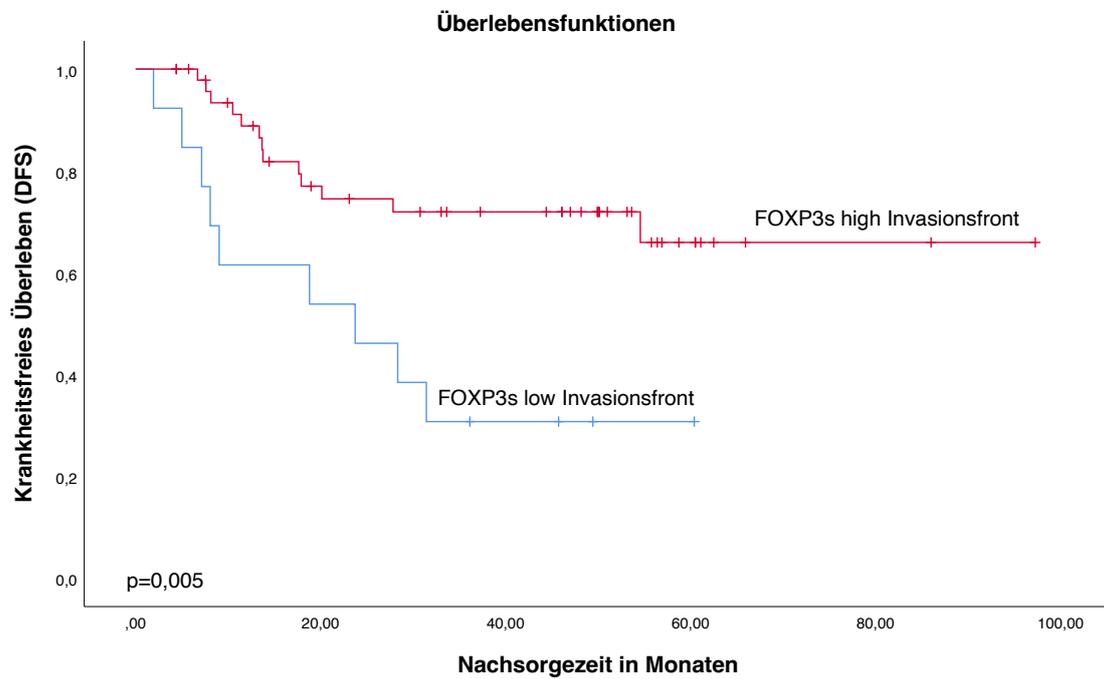


Abbildung 7: Überlebenskurven nach Kaplan-Meier - Gegenüberstellung von $FOXP3s^{high}$ und $FOXP3s^{low}$ an der IF bezogen auf das DFS

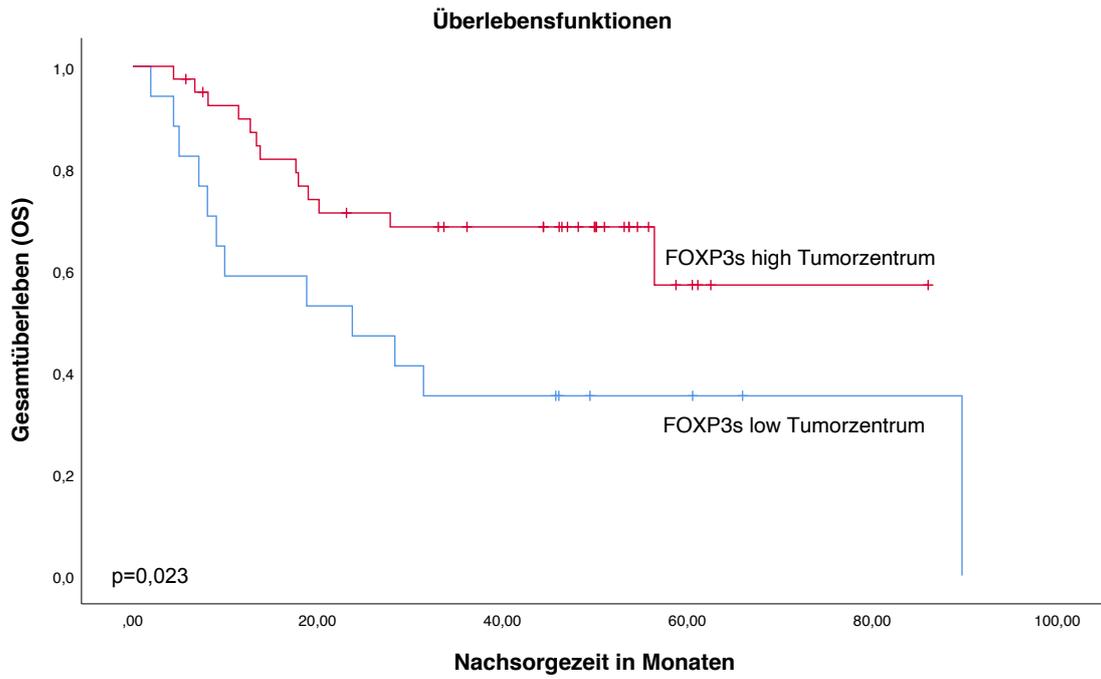


Abbildung 8: Überlebenskurven nach Kaplan-Meier - Gegenüberstellung von $FOXP3s^{high}$ und $FOXP3s^{low}$ innerhalb des TZe bezogen auf das OS

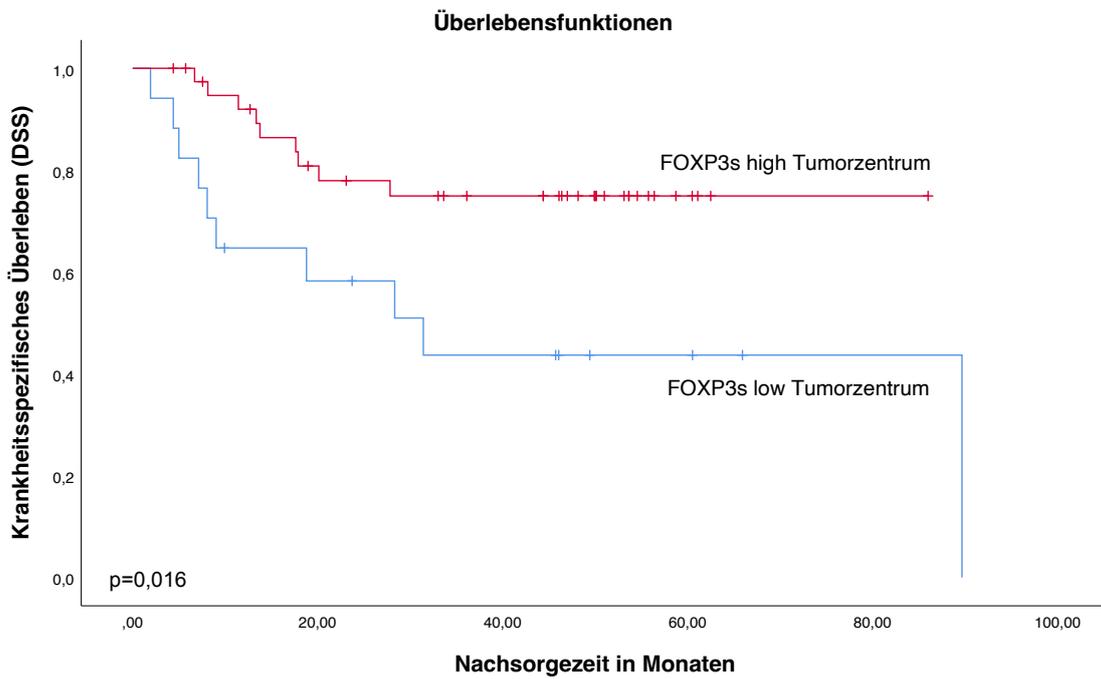


Abbildung 9: Überlebenskurven nach Kaplan-Meier - Gegenüberstellung von $FOXP3s^{high}$ und $FOXP3s^{low}$ innerhalb des TZe bezogen auf das DSS

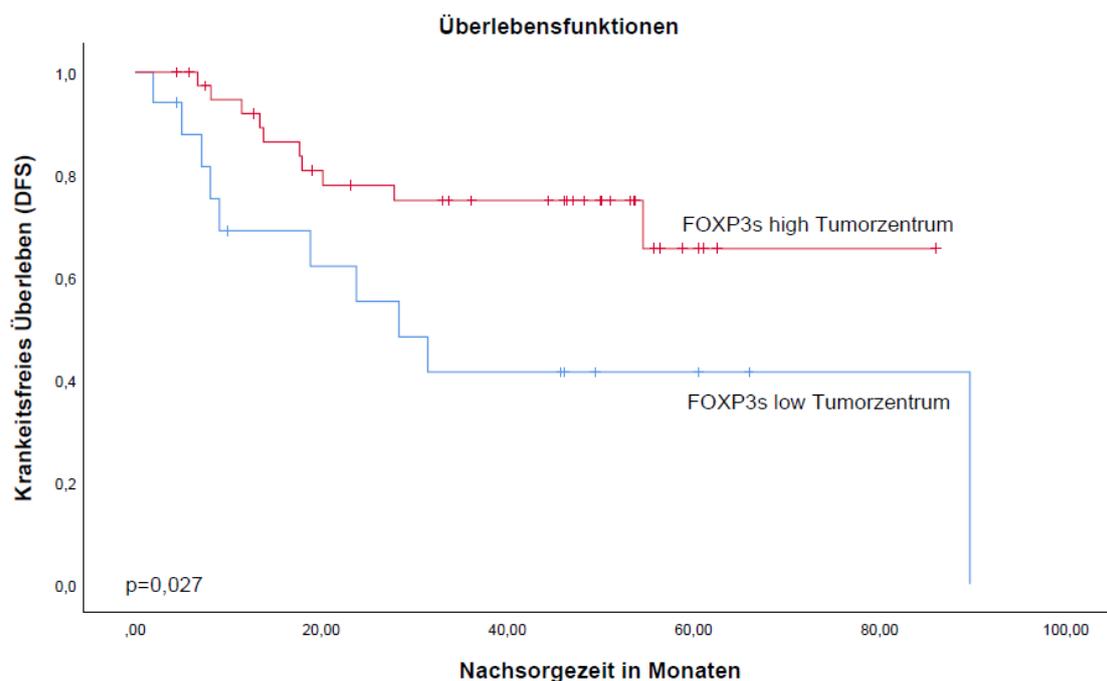


Abbildung 10: Überlebenskurven nach Kaplan-Meier - Gegenüberstellung von $FOXP3s^{high}$ und $FOXP3s^{low}$ innerhalb des TZe bezogen auf das DFS

4.6 Überlebenszeit in Korrelation mit den Verhältnissen der TIL-Subgruppen

Eine signifikant günstige Prognose mit längeren Überlebenszeiten konnte bei einem hohen Verhältnis von CD8s:CD4s, sowie FOXP3i:CD4i innerhalb des Tumorzentrum beobachtet werden. Bei hohem CD8s:CD4s-Verhältnis stellten sich die Überlebenszeiten folgendermaßen dar: Mittleres OS: 59,6 Monate ($p=0,127$), mittleres DSS: 70,1 Monate ($p=0,015$), mittleres DFS: 65,4 Monate ($p=0,069$). Wiesen die Karzinome ein geringes CD8s:CD4s-Verhältnis auf, reduzierten sich die Überlebenszeiten auf 47,6 Monate bezogen das OS (DSS: 47,6 Monate; DFS: 50,5 Monate). Die mittleren Überlebenszeiten bei Patienten mit $FOXP3i:CD4i^{high}$ betragen für das OS 61 Monate ($p=0,056$), für das DSS 70,6 Monate ($p=0,022$) und für das DFS 67,0 Monate ($p=0,025$). Im Vergleich waren die Überlebenszeiten der Patienten mit Karzinomen mit einem niedrigen FOXP3i:CD4i-Verhältnis wie folgt: OS: 31,2 Monate, DSS: 32,7 Monate und DFS: 32,7 Monate.

Alter, Geschlecht, pT- und pN-Stadium, sowie Grading wurden in die multivariate statistische Analyse mittels des Cox-Regressionsmodells einbezogen. Sie zeigte, dass das CD8s:CD4s-Verhältnis einen unabhängigen prognostischen Parameter für oben genannte Zusammenhänge darstellt bezogen auf das DSS (HR: 4,3; $p=0,009$) und das DFS (HR: 3,4; $p=0,013$). Für das FOXP3i:CD4i-Verhältnis konnte keine Unabhängigkeit zu den oben genannten Parametern festgestellt werden ($p>0,5$).

Es wurden keine weiteren signifikanten Korrelationen zwischen Überlebenszeit und den Verhältnissen der TILs beobachtet. Die signifikanten Ergebnisse, sowie alle Weiteren, sind im Anhang dargestellt. Abbildungen 11 bis 16 zeigen die jeweiligen Kaplan-Meier-Kurven der signifikanten Ergebnisse.

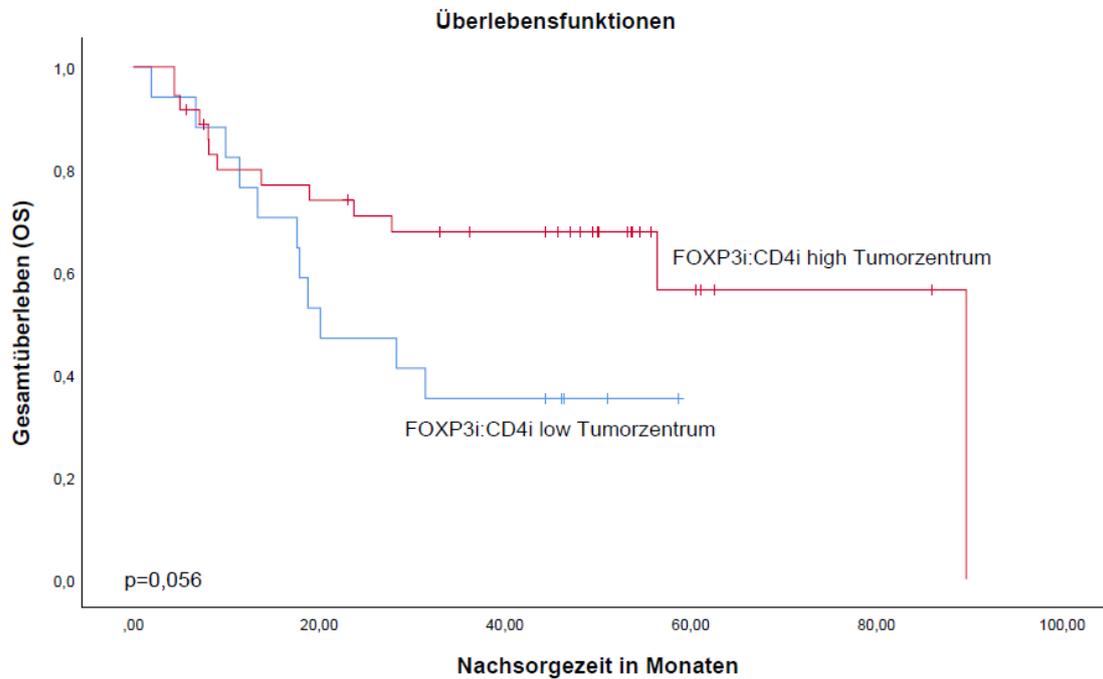


Abbildung 11: Überlebenskurven nach Kaplan-Meier - Gegenüberstellung von FOXP3i:CD4i^{high} und FOXP3i:CD4i^{low} innerhalb des TZe bezogen auf das OS

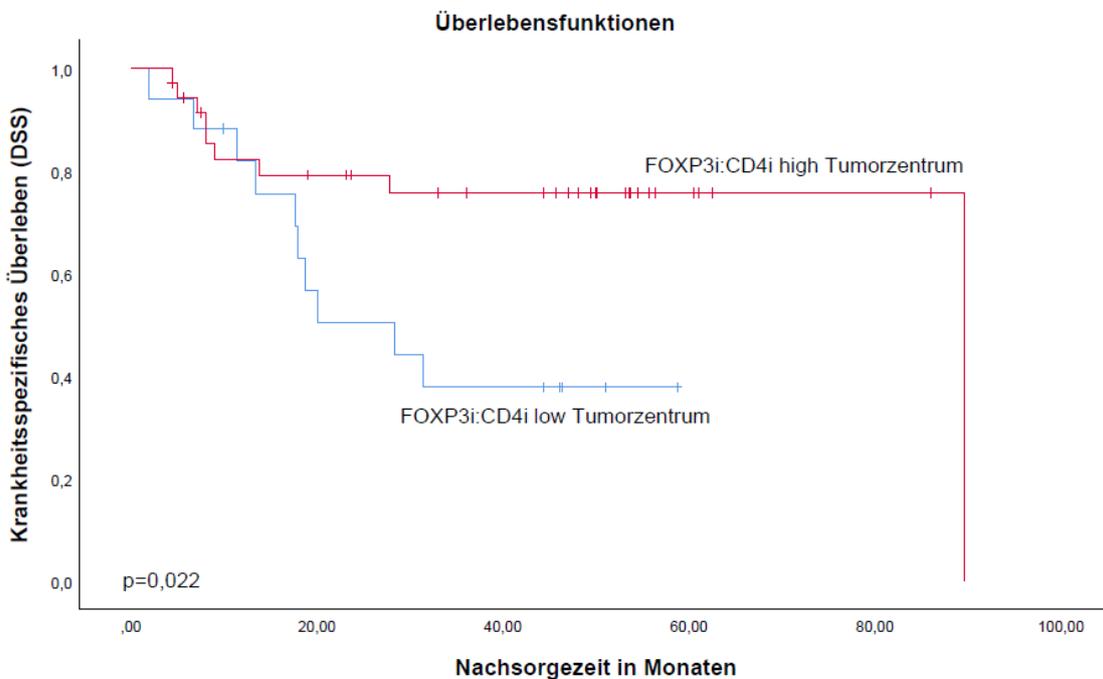


Abbildung 12: Überlebenskurven nach Kaplan-Meier - Gegenüberstellung von FOXP3i:CD4i^{high} und FOXP3i:CD4i^{low} innerhalb des TZe bezogen auf das DSS

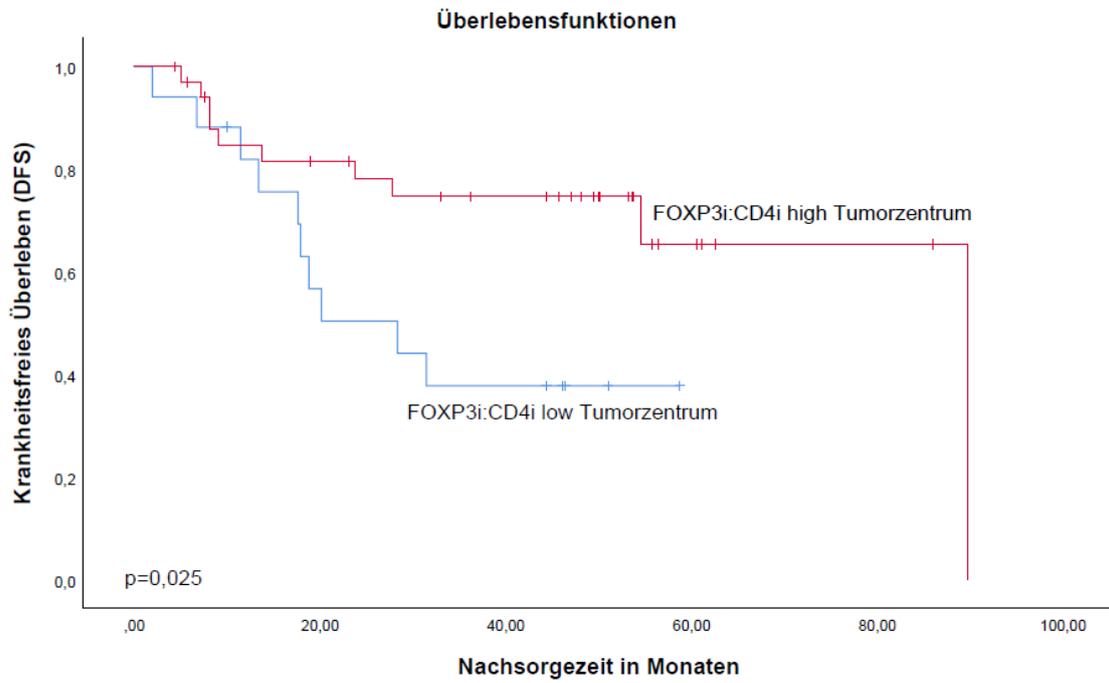


Abbildung 13: Überlebenskurven nach Kaplan-Meier - Gegenüberstellung von $FOXP3i:CD4i^{high}$ und $FOXP3i:CD4i^{low}$ innerhalb des TZe bezogen auf das DFS

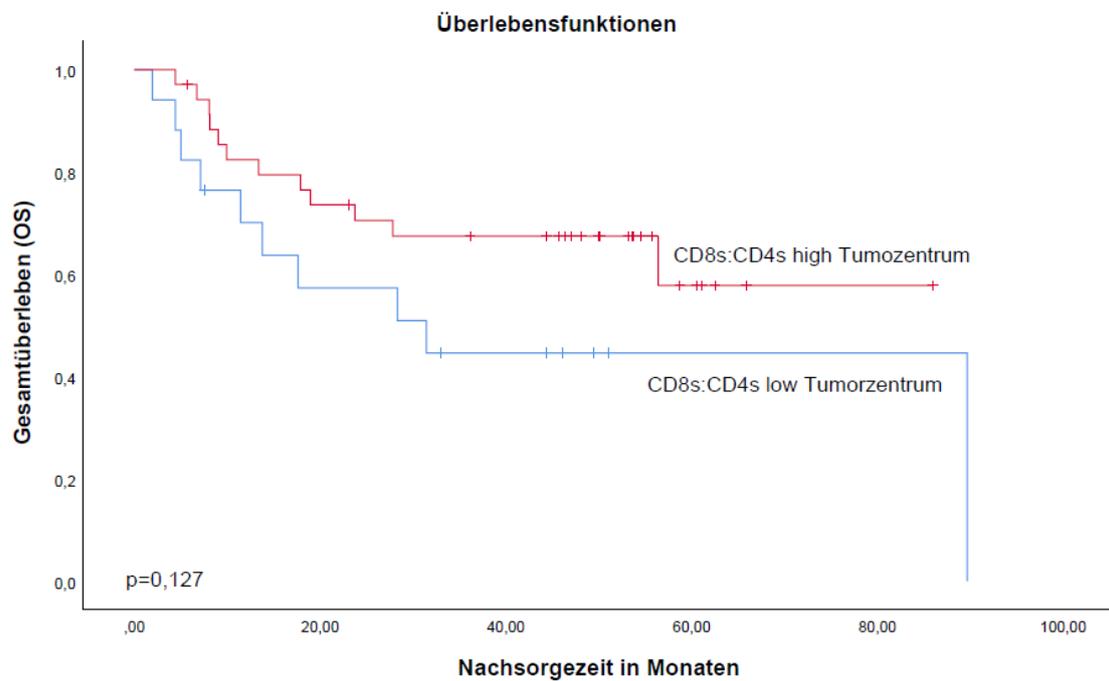


Abbildung 14: Überlebenskurven nach Kaplan-Meier - Gegenüberstellung von $CD8s:CD4s^{high}$ und $CD8s:CD4s^{low}$ innerhalb des TZe bezogen auf das OS

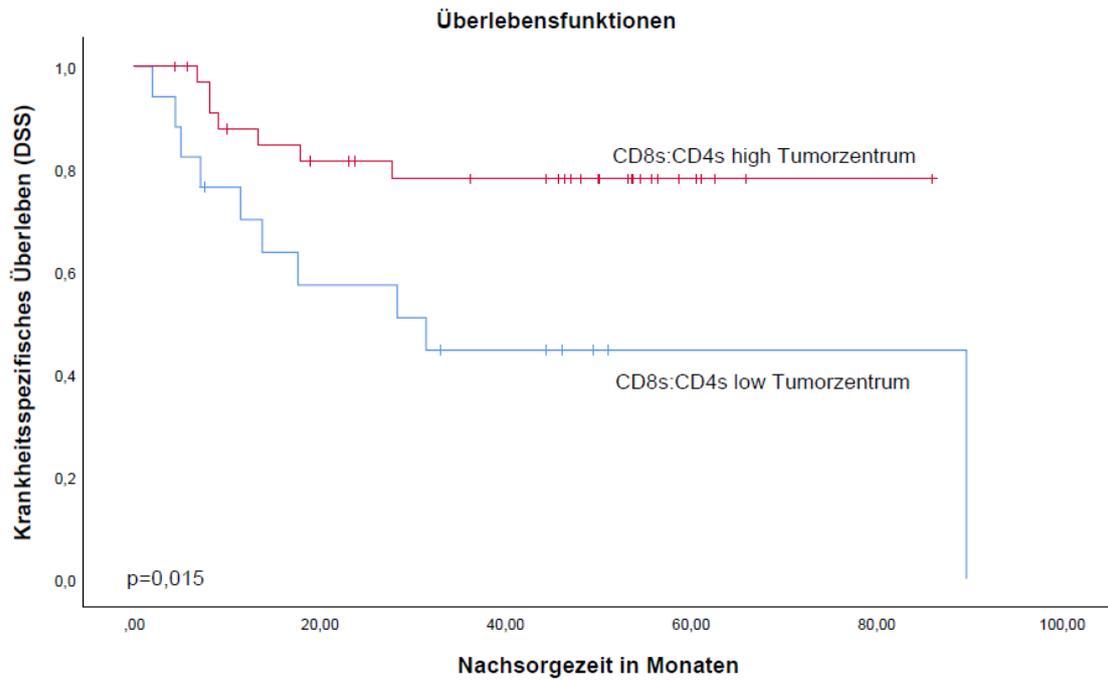


Abbildung 15: Überlebenskurven nach Kaplan-Meier - Gegenüberstellung von $CD8s:CD4s^{high}$ und $CD8s:CD4s^{low}$ innerhalb des TZe bezogen auf das DSS

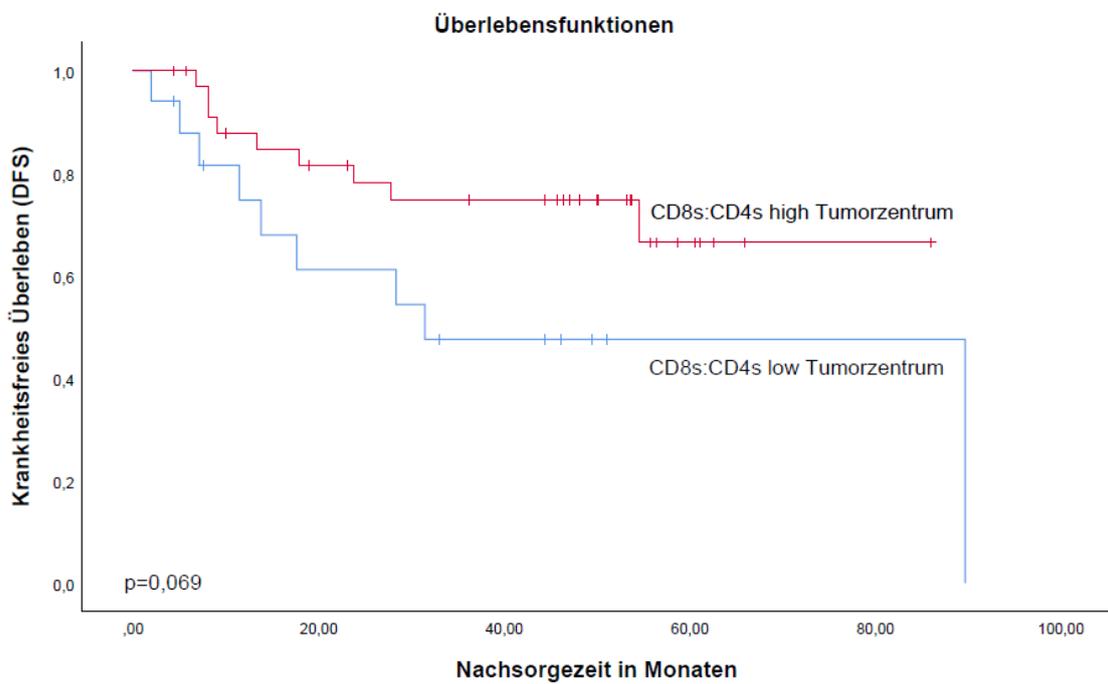


Abbildung 16: Überlebenskurven nach Kaplan-Meier - Gegenüberstellung von $CD8s:CD4s^{high}$ und $CD8s:CD4s^{low}$ innerhalb des TZe bezogen auf das DFS

5 Diskussion

Das OSCC ist nach wie vor mit einer relativ geringen Überlebensrate assoziiert (Liu et al. 2016; Ruiter et al. 2017). Bisher war es nicht möglich, validierte Biomarker zu ermitteln, die eine individuelle prognostische Aussage über die anstehenden Behandlungen liefern (Ruiter et al. 2017). Die Therapieempfehlung basiert unter anderem auf dem TNM-System, welches weder das TME, noch eine individuelle Prognose für die Patienten berücksichtigt (Galon et al. 2014). Neben der konventionellen Therapie stellt die Immuntherapie einen weiteren Therapieansatz dar, welcher sich als valide Option etablieren könnte (Ruiter et al. 2017). Ob und wie die Immuntherapie bei Patienten anschlägt, hängt dabei wesentlich vom TME ab (Spranger 2016). Dieses wird hauptsächlich durch tumorinfiltrierende Lymphozyten geprägt. Zu den wichtigsten Untergruppen zählen $CD3^+$ -T-Zellen, $CD4^+$ -Helferzellen, $CD8^+$ -zytotoxische T-Zellen, sowie $CD4^+$ -FOXP3⁺-regulatorische T-Zellen (Chen et al. 2018), sowie HLA-Klasse I (Waßmuth 2005). In der Literatur wird ein Zusammenhang zwischen dem Vorhandensein, der Verteilung und Dichte von TILs, der Immunantwort auf Tumoren und damit auf die Prognose beschrieben (Galon et al. 2016; Ruiter et al. 2017; Chen et al. 2018; Protti et al. 2014; Mlecnik et al. 2011). Für Darmkrebs hat sich der so genannte Immunoscore neben der TNM-Klassifikation bereits etabliert, welcher einen übergeordneten Rückschluss auf die Prognose der Patienten, sowie auf individuelle Therapieoptionen bietet (Galon et al. 2016; Fridman et al. 2012). Ziel vieler aktueller und dieser Studie ist es, für OSCC ebenfalls einen vorhersagbaren Zusammenhang zwischen immunologischen Biomarkern und der Prognose herstellen zu können (Galon et al. 2016). Die Studienlage ist teilweise kontrovers und soll durch die vorliegenden Ergebnisse ergänzt werden.

5.1 Diskussion der Methodik

Die Gewebeproben der 66 Patienten lagen für die Studie in Form von TMAs vor. Diese haben den Vorteil, dass eine Vielzahl von Patientenproben auf einem Objektträger vorliegen und zur gleichen Zeit standardisierten Tests unterzogen und analysiert werden können. Die Kosten für diese Technik sind geringer und die Ergebnisse vergleichbar zu größeren Gewebeproben (Milanes-Yearsley et al. 2002; Aktas 2004). In der vorliegenden Arbeit wurden, sofern möglich, je zwei Stenzen von der Invasionsfront und dem Tumorzentrum gewonnen. Kritisch muss hier die Repräsentation für die Antigen-Expression bezogen auf den gesamten Tumor gesehen werden (Aktas 2004). Zudem konnten nicht von jedem Präparat Proben aus der Invasionsfront und dem Tumorzentrum gewonnen werden. Eine größere Patientengruppe könnte spezifischere Daten über das TME liefern.

Durch die Anwendung der Immunhistochemie können Antigene mittels Antikörper in Geweben nachgewiesen und damit bestimmte Zellarten markiert werden (Ulfig 2015). Die IHC beachtet allerdings nicht die Spezifität der Zellen. So wird zum Beispiel FOXP3 auch von anderen Zellen als T_{regs} exprimiert (Protti et al. 2014; Fridman et al. 2012; Lakshmi Narendra et al. 2013; Liu et al. 2016). Um die Fehlerquote zu minimieren, erfolgten Doppelfärbungen für die Identifikation von T_{regs}, wie in Kapitel 4.3 beschrieben. Zudem wurde die Morphologie der untersuchten Zellen berücksichtigt.

Die quantitative Auswertung erfolgte manuell und bezog sich auf eine exemplarische Region von 100 Tumorzellen. Sie ist damit schwer reproduzierbar und bezieht nicht das ganze Tumorgewebe mit ein. Die intratumorale Heterogenität wird so nicht vollends berücksichtigt (Chen et al. 2018). Mit Hilfe computergestützter Programme könnte eine schnellere, reproduzierbare Routineanalyse mit übereinstimmenden Ergebnissen durchgeführt und gleichzeitig größere Areale ausgewertet werden (Galon et al. 2014).

Eine Unterscheidung der Tumorregionen in Tumorzentrum und Invasionsfront verbesserte die Genauigkeit der Überlebensvorhersage (Galon et al. 2014) und wurde daher in der Auswertung berücksichtigt.

Trotz wachsender Studienanzahl wird der genaue Einfluss von TILs beim OSCC kontrovers diskutiert. Limitiert ist die aktuelle Studienlage vor allem durch unterschiedlichen anatomischen Bezug, Studiengröße und -design und unterschiedliche Therapieansätze (Chen et al. 2018; Ruiter et al. 2017).

Die Ergebnisse der vorliegenden retrospektiven Studie sollten durch größere und prospektive Studien gesichert werden.

5.2 Diskussion der Ergebnisse

5.2.1 Korrelation der immunologischen Parameter

Die immunologischen Parameter wurden jeweils für die Invasionsfront und das Tumorzentrum miteinander korreliert, um den Einfluss aufeinander darzustellen.

Voraussetzung für die Induktion einer zytotoxischen Immunantwort durch CD8⁺-T-Lymphozyten ist die Antigenpräsentation durch HLA-Klasse-I-Moleküle. Therapeutisch kann dieser Weg zur Immunintervention durch tumorspezifische, zytotoxische T-Lymphozyten genutzt werden. Kommt es zu einem Expressionsverlust auf Tumorzellen, kann der Immunantwort entgangen werden. Die Analyse der HLA-Klasse-I-Expression könnte daher bei der Entwicklung und Kontrolle der Immuntherapie hilfreich sein (Waßmuth 2005). In der Literatur wird eine hohe HLA-Klasse-I-Expression mit hohem Zellinfiltrat von CD3⁺- und CD8⁺-Lymphozyten beschrieben (Lechner et al. 2017). Diese Beobachtung konnte

in der vorliegenden Arbeit ebenfalls gemacht werden, interessanterweise hauptsächlich im Epithel.

Wie in der Literatur ebenfalls beschrieben, korrelierten $CD4^+$ -Lymphozyten positiv mit $FOXP3^+$ -Lymphozyten und spiegeln damit die Tatsache wider, dass T_{regs} eine $CD4$ -Untergruppe darstellen (Wolf et al. 2015).

Stromale und intraepitheliale $CD8^+$ -T-Zellen wurden im Tumorzentrum positiv miteinander korreliert und stützen damit die These, dass $CD8$ sowohl im Epithel als auch im Stroma vorkommt (Watanabe et al. 2010).

Positive Korrelationen zwischen stromaler und intraepithelialer $FOXP3$ -Infiltration wurden, anders als von anderen Arbeitsgruppen belegt (Seminerio et al. 2019) nicht festgestellt. $FOXP3^+$ -Lymphozyten scheinen sich allerdings häufig im stromalen Kompartiment anzuhäufen (Watanabe et al. 2010).

T_{H17} -Zellen unterliegen einer gewissen Plastizität. Sie können sich in T_{H1} -ähnliche Zellen transdifferenzieren und damit antitumorale Wirkungen entfalten. Eine Differenzierung ist allerdings auch in regulatorische T-Zellen mit eher immunsuppressiven Funktionen möglich. (Lakshmi Narendra et al. 2013; Wang et al. 2009) Daher wurden T_{H17} -Zellen im TME unter anderem positiv mit $CD8^+$ -T-Zellen und negativ mit T_{regs} korreliert (Zou und Restifo 2010). In der hier untersuchten Kohorte waren die TIL-Subgruppen positiv miteinander verknüpft.

5.2.2 Immunologische Parameter, sowie deren Verhältnisse in Korrelation mit klinikpathologischen und histopathologischen Daten

Die Expression von HLA-Klasse I zeigte keinen signifikanten Zusammenhang mit klinik- oder histopathologischen Daten.

$CD3^+$ -Lymphozyten scheinen eine Rolle bei der Immunantwort bei Krebserkrankungen zu spielen und könnten damit als prognostischer Marker dienen (Galon et al. 2014). Bezogen auf die Studienkohorte konnte ein geringeres UICC-Stadium bei hoher $CD3$ -Infiltration beobachtet werden und untermauern damit diese Annahme.

Eine hohe Dichte von $CD4$ an der IF war mit geringerem pN- und UICC-Stadium assoziiert. Der Einfluss von $CD4$ wird in der Literatur kontrovers diskutiert. So wurde zum Einen in einer Studie mit 93 Proben von PECAs der Zunge eine niedrige Anzahl von $CD4$ mit einem höherem pT-Stadium in Zusammenhang gebracht (Chen et al. 2018). Eine Beobachtung, die auch in der vorliegenden Arbeit festgestellt werden konnte, allerdings ohne Erreichen des Signifikanzniveaus. Ein niedriges Level an $CD4^+$ -Lymphozyten ergab bei der Untersuchung von 39-OSCC Patienten eine verringerte Differenzierung

der Karzinome (Wolf et al. 2015). Fang et al. (2017) konnten unter anderem keinen Einfluss von CD4 auf die klinikpathologischen Daten herausarbeiten. Wie oben erwähnt, ist die kontroverse Diskussion unter anderem mit unterschiedlichem Studiendesign zu erklären. Chen et al. (2018) unterteilten die TIL-Subgruppen anhand des Medianwertes, während in der vorliegenden Arbeit das 33. und 66. Perzentil verwendet wurde. Zudem wurden unterschiedliche anatomische Bezugspunkte gewählt. Ebenso ist bei alleiniger Färbung mit CD4 zu beachten, dass dadurch mehrere Subgruppen wie antitumorale T_{H1} - und protumorale T_{H2} -Zellen markiert werden und somit je nach überwiegender Infiltration kontroverse Aussagen getroffen werden können (Ruiter et al. 2017; Protti et al. 2014).

CD8⁺-T-Zellen wurden bei OSCC, sowie weiteren Krebsarten, mit einer günstigen Prognose in Zusammenhang gebracht (Gentles et al. 2015; Galon et al. 2016; Ruiter et al. 2017) und haben eine wichtige Bedeutung bei der Überwachung von Krebs durch das Immunsystem (Lakshmi Narendra et al. 2013). Für OSCC werden sie unter anderem als unabhängiger Prognosefaktor beschrieben und wurden in hoher Anzahl mit negativem Lymphstatus (Fang et al. 2017) und geringerem Tumorstadium korreliert (Chen et al. 2018). In unserer Kohorte konnte ein geringes pT- und pN-Stadium bei CD8^{high} (ohne Signifikanz) beobachtet werden. Ein signifikanter Zusammenhang konnte allerdings für ein hohes stromales CD8:CD4-Verhältnis an der IF mit geringem pN-Stadium festgestellt werden.

Der Einfluss von FOXP3, bzw. T_{regs} wird je nach Tumorart kontrovers diskutiert. Einige Studien beschreiben einen negativen, gar keinen oder positiven Einfluss von FOXP3 auf HNSCC bzw. OSCC (Chen et al. 2018; Zhang et al. 2019; Liu et al. 2016; Fridman et al. 2012; Bron et al. 2013; Lakshmi Narendra et al. 2013; Gentles et al. 2015; Hanakawa et al. 2014).

In einer Studie war unter anderem die erhöhte FOXP3-Expression mit höherer Rezidivrate, niedriges CD8/FOXP3-Verhältnis mit geringerem Differenzierungsgrad und erhöhtem Tumorstadium (Zhang et al. 2019) assoziiert. Demgegenüber hatte FOXP3 sowohl einzeln als auch im Verhältnis zu anderen TILs in einigen Studien, wie auch in der hier vorliegenden, einen positiven Einfluss. Unter anderem wurden keine Lymphknotenmetastasen (Bron et al. 2013) oder ein geringes pT-Stadium (Wolf et al. 2015; Lim et al. 2014) bei hoher FOXP3-Infiltration bzw. hohem FOXP3/CD8-Verhältnis festgestellt. Interessanterweise hatten auf die klinikpathologischen Daten in unserer Kohorte sowohl intraepitheliale, als auch stromale FOXP3⁺-Zellen, sowie hohe FOXP3-Verhältnisse eine günstige Auswirkung.

5.2.3 Überlebenszeit in Korrelation mit immunologischen Parametern, sowie mit den Verhältnissen der TIL-Subgruppen

Eine hohe CD3-Expression steht bei einigen Krebsarten mit verlängertem Überleben (insbesondere DFS) in Verbindung (Galon et al. 2016; Mlecnik et al. 2011). Zhou et al. (2018) beobachteten in ihrer Studie ein verbessertes OS und DSS bei einer hohen Anzahl von CD3⁺-Lymphozyten an der Invasionsfront. Ruiter et al. (2017) beschrieben in ihrem Review eine gute Prognose bei hoher CD3-Infiltration, ohne auf die genaue Region einzugehen. In der vorliegenden Arbeit wurde ebenfalls ein verlängertes Überleben bei hoher CD3-Anzahl beobachtet, allerdings ohne Signifikanz.

Vorhandene CD3⁺CD4⁺-T-Zellen führen bei kolorektalem Krebs zu verbessertem Überleben (Mlecnik et al. 2011). Hanakawa et al. (2014) beschreiben in ihrer Untersuchung eine negative Auswirkung von stromalen CD4 bei Plattenepithelkarzinomen der Zunge. Wohingegen Nguyen et al. (2016) ein verlängertes Überleben für HNSCC, insbesondere den Oropharynx feststellten. Diese Beobachtungen unterstreichen den Aspekt der Unterscheidung in anatomische Teilbereiche bei der Auswertung von TILs und dessen Prognose.

Wie oben erläutert, wird in der Literatur eine hohe CD8-Expression mit einer günstigen Prognose, sowie längeren Überlebenszeiten beschrieben und stellt damit einen signifikanten prognostischen Biomarker dar (Fang et al. 2017; Chen et al. 2018; Galon et al. 2016; Shimizu et al. 2019; Mlecnik et al. 2011; Zhou et al. 2018; Watanabe et al. 2010). Einige Studien zeigten dabei, dass vor allem das Stroma von TILs infiltriert war, und insbesondere stromales CD8, einen Einfluss auf die Prognose darstellt (Watanabe et al. 2010; Fang et al. 2017; Zhang et al. 2019).

Einige Studien betrachteten neben den einzelnen immunologischen Parametern auch die Verhältnisse untereinander und postulierten, dass das Verhältnis der TILs ein stärkerer prognostischer Faktor als die einzelnen TIL-Subgruppen darstellten (Chen et al. 2018; Zhang et al. 2019; Watanabe et al. 2010).

Chen et al. (2018) stellten ein hohes CD8/FOXP3-Verhältnis als prognostisch günstigen Marker heraus. Die Studie untersuchte Proben von 93 Patienten mit adjuvanter Radio- oder Chemotherapie. Bei therapienaiven Präparaten von 45 OSCC-Patienten wurde bei niedrigem CD8/FOXP3-Verhältnis eine verringertes OS festgestellt (Zhang et al. 2019). In der hier analysierten Kohorte konnte dieser Zusammenhang nicht beobachtet werden, dafür wurde allerdings ein hohes stromales CD8:CD4-Verhältnis innerhalb des Tumorzentrums als unabhängiger positiver Prognosefaktor erfasst und unterstreicht den positiven Einfluss von CD8 auf den antitumoralen Effekt.

Neben kontroversen Diskussionen bezüglich klinikpathologischer Daten, sind ebenso unterschiedliche Ergebnisse im Zusammenhang mit FOXP3⁺-T-Zellen beim HNSCC oder OSCC bezogen auf das Überleben dokumentiert. Während einerseits eine starke Infiltration von T_{regs} in der Zunge mit verringertem DFS (Hanakawa et al. 2014; Chen et al. 2018) und schlechter Prognose (Liu et al. 2016; Watanabe et al. 2010) assoziiert war, wurde FOXP3 andererseits mit besserem Überleben bzw. guter Prognose (Lim et al. 2014 – ohne Signifikanz; Ruiters et al. 2017; Lakshmi Narendra et al. 2013) und sogar als unabhängiger günstiger Prognosefaktor beschrieben (Bron et al. 2013; Seminerio et al. 2019). Ebenso wie bei Seminerio et al. wurde bei den Präparaten der 66 OSCC-Patienten eine hohe Stromalinfiltration von FOXP3 als unabhängiger Prognosefaktor detektiert.

Als mögliche Erklärung für kontroverse Ergebnisse sind neben allgemeinen Gründen wie Studiendesign, Unterschiede in der Therapie und anatomische Varianzen (Chen et al. 2018; Fridman et al. 2012) auch die Heterogenität und Plastizität der Immunzellen zu nennen. Je nach Differenzierungsgrad und Signalwegen von Zytokinen innerhalb des TMEs können Zellen pro- und antitumorale Eigenschaften ausüben (Lakshmi Narendra et al. 2013). Bezogen auf FOXP3⁺-T_{regs} sind diese unter anderem in der Lage eine, durch CD8⁺-Lymphozyten hervorgerufene, antitumorale Immunantwort zu unterdrücken. So können immunsuppressive Zytokine ausgeschüttet, die Proliferation von T-Zellen gestört und damit das Tumorstadium gefördert werden (Lakshmi Narendra et al. 2013; Liu et al. 2016; Ruiters et al. 2017). Andererseits wird vermutet, dass T_{regs} in unterschiedlichen Tumorstadien unterschiedliche Funktionen ausführen und nicht zwingend alle T_{regs} immunsuppressiv wirken (Liu et al. 2016; Ruiters et al. 2017). Möglicherweise könnte auch die Herkunft der CD4⁺-FOXP3⁺-T-Zellen (Peripherie vs. Tumor) einen Einfluss auf die Prognose haben (Bron et al. 2013). Regulatorische T-Zellen sind bei OSCC-Patienten vermehrt nachgewiesen, insbesondere in frühen Tumorstadien (Liu et al. 2016; Ruiters et al. 2017). Durch vom Tumor sezernierte Chemokine und andere Faktoren (wie TGF-β) werden T_{regs} in das TME gelockt. Darüber hinaus scheinen T_{regs} innerhalb des TME resistenter zu sein und sich häufiger zu vermehren (Liu et al. 2016). Der positive Einfluss von T_{regs} bei OSCC könnte durch eine Unterdrückung einer tumorfördernden Entzündung (z.B. ausgelöst durch Nikotin oder Alkohol) zustande kommen und der Tumorstadium entgegenwirken (Liu et al. 2016; Bron et al. 2013; Ruiters et al. 2017; Lakshmi Narendra et al. 2013; Chen et al. 2018).

Insbesondere T_{regs} könnten daher einen therapeutischen Ansatz beim OSCC darstellen und sollten daher eingehender untersucht werden (Liu et al. 2016).

Bei Patienten mit hepatozellulärem Karzinom standen IL-17A⁺-Zellen im Zusammenhang mit schlechtem Überleben (Li et al. 2015). Bei den 66 OSCC-Patienten konnte hierrüber keine ausreichend signifikante Aussage getroffen werden und stützt damit Ergebnisse aus der Literatur (Fridman et al. 2012).

5.2.4 Schlussfolgerung

Die Entwicklung eines prognostischen Immunoscores beim OSCC könnte langfristig zu vorrausschauenden prognostischen Aussagen führen und damit die Lebensumstände der Patienten verbessern. Dabei ist ein genaues Verständnis der komplexen Interaktion zwischen Tumor und Immunsystem notwendig (Galon et al. 2016), da die Erkennung eines Tumors durch das Immunsystem den essenziellen Schlüssel einer antitumoralen Reaktion darstellt (Spranger 2016). Die Schwierigkeit besteht dabei in der Dynamik, Plastizität und Dichte der TILs, aber auch in der Veränderung des TMEs und in den Tumorzellen selbst (Galon et al. 2016; Fridman et al. 2012). Darüber hinaus variiert das Outcome der Patienten bei gleichem Tumorstadium, sodass die prognostische Aussage der TNM-Klassifikation limitiert zu sein scheint (Galon et al. 2014). Die Identifizierung prognostischer Marker kann zum besseren Verständnis beitragen (Ruiter et al. 2017) und war Ziel dieser Arbeit.

Die gewonnenen Erkenntnisse könnten zu der Entwicklung immunbasierter Therapieansätze beitragen und sollten daher anhand größerer prospektiver Studien gesichert werden.

6 Zusammenfassung

Das PECA ist die häufigste Form der oralen Malignome. Trotz etablierter, meist chirurgischer oder kombinierter Therapie geht diese Erkrankung mit einer relativ niedrigen Überlebensrate und schlechter Prognose einher. In den letzten Jahren rückte der Behandlungsansatz der Immuntherapie verstärkt in den Fokus. Allerdings bedarf es einem genaueren Verständnis des Tumormikromilieus zur Etablierung neuer Therapieverfahren.

Ziel dieser Arbeit war es, Zusammensetzung und klinische Auswirkungen des immunologischen Tumormikromilieus zu analysieren und Prognoseparameter aus den Ergebnissen abzuleiten.

Im Rahmen der retrospektiven Analyse wurden Gewebeproben von 66 Patienten mit OSCC ausgewertet. Die Therapie erfolgte zwischen 2008 und 2012 am Klinikum Rechts der Isar der Technischen Universität München mittels einer vollständigen chirurgischen Resektion. Es erfolgte die Erstellung von TMAs, sowie die immunohistochemische Färbung der Präparate, um HLA-Klasse I, reife T-Zellen (CD3⁺), T-Helferzellen (CD4⁺), zytotoxische T-Zellen (CD8⁺), regulatorische T-Zellen (FOXP3⁺) und T_{H17}-Zellen (IL-17A⁺) sichtbar zu machen. Tumorzentrum und Invasionsfront, ebenso wie Epithel und Stroma wurden separat ausgewertet. Für die statistische Auswertung mit SPSS wurden die Absolutwerte nach ihrem Perzentil eingeteilt und Wertungsgruppen (high/low) gebildet. Darüber hinaus wurden die Verhältnisse der Subgruppen berechnet.

Eine geringe HLA-Klasse-I-Expression war sowohl an der Invasionsfront als auch innerhalb des Tumorzentrums mit einer geringen Dichte an TILs verbunden. TILs-Subgruppen korrelierten positiv miteinander an IF und TZe. OSCC mit einer hohen Dichte von CD3, CD4, CD8 und FOXP3 wiesen generell bessere klinikpathologische Daten auf, wie z.B. ein geringeres UICC-Stadium. Die erhöhte stromale Dichte von FOXP3 wurde als unabhängiger Prognosefaktor bezogen auf ein höheres Gesamt- (TZe), krankheitsspezifisches und krankheitsfreies (IF und TZe) Überleben herausgearbeitet. Ein hohes Verhältnis von intraepithelialelem FOXP3:CD4 (TZe) war mit einer längeren Überlebenszeit assoziiert. Ein hohes stromales CD8:CD4-Verhältnis (TZe) stellte einen unabhängigen, guten Prognoseparameter bezüglich des krankheitsspezifischen und krankheitsfreien Überlebens dar.

Die gewonnenen Erkenntnisse könnten bei der Entwicklung immunbasierter Therapieansätze helfen.

7 Literaturverzeichnis

Aggarwal, S.; Gurney, A. L. (2002): IL-17: prototype member of an emerging cytokine family. In: *Journal of leukocyte biology* 71 (1), S. 1–8.

Aktas, S. (2004): Tissue microarray: Current perspectives in pathology. In: *Aegean Pathology Journal* (1), S. 27–32. Online verfügbar unter http://www.turkijpath.org/pdf/pdf_APJ_658.pdf, zuletzt geprüft am 06.12.2020.

Altieri, A.; Bosetti, C.; Talamini, R.; Gallus, S.; Franceschi, S.; Levi, F. et al. (2002): Cessation of smoking and drinking and the risk of laryngeal cancer. In: *British journal of cancer* 87 (11), S. 1227–1229. DOI: 10.1038/sj.bjc.6600638.

Andre, K; Schraub, S; Mercier, M; Bontemps, P. (1995): role of alcohol and tobacco in the aetiology of head and neck cancer: A case-control study in the doubs region of France. In: *European Journal of Cancer Part B: Oral Oncology* 31 (5), S. 301–309. DOI: 10.1016/0964-1955(95)00041-0.

Armstrong, A. C.; Eaton, D.; Ewing, J. C. (2001): Science, medicine, and the future: Cellular immunotherapy for cancer. In: *BMJ (Clinical research ed.)* 323 (7324), S. 1289–1293. DOI: 10.1136/bmj.323.7324.1289.

Bagnardi, V.; Blangiardo, M.; La Vecchia, C.; Corrao, G. (2001): A meta-analysis of alcohol drinking and cancer risk. In: *Br J Cancer* 85 (11), S. 1700–1705. DOI: 10.1054/bjoc.2001.2140.

Balaram, P.; Sridhar, H.; Rajkumar, T.; Vaccarella, S.; Herrero, R.; Nandakumar, A. et al. (2002): Oral cancer in southern India: The influence of smoking, drinking, paan-chewing and oral hygiene. In: *International Journal of Cancer* 98 (3), S. 440–445. DOI: 10.1002/ijc.10200.

Blot, W. J.; McLaughlin, J. K.; Winn, D. M.; Austin, D. F.; Greenberg, R. S.; Preston-Martin, S. et al. (1988): Smoking and Drinking in Relation to Oral and Pharyngeal Cancer. In: *Cancer Res* 48 (11), S. 3282–3287. Online verfügbar unter <https://cancer-res.aacrjournals.org/content/canres/48/11/3282.full.pdf>.

Brierley, J.; Gospodarowicz, M. K; Wittekind, C. (Hg.) (2017): TNM classification of malignant tumors. Eighth edition. Chichester, West Sussex, UK, Hoboken, NJ: John Wiley & Sons Inc.

Bron, L.; Jandus, C.; Andrejevic-Blant, S.; Speiser, D. E.; Monnier, P.; Romero, P.; Rivals, J.-P. (2013): Prognostic value of arginase-II expression and regulatory T-cell infiltration in head and neck squamous cell carcinoma. In: *International Journal of Cancer* 132 (3), E85-93. DOI: 10.1002/ijc.27728.

Buisseret, L.; Garaud, S.; de Wind, A.; van den Eynden, G.; Boisson, A.; Solinas, C. et al. (2017): Tumor-infiltrating lymphocyte composition, organization and PD-1/ PD-L1 expression are linked in breast cancer. In: *Oncoimmunology* 6 (1). DOI: 10.1080/2162402X.2016.1257452.

Chen, W.-Y.; Wu, C.-T.; Wang, C.-W.; Lan, K.-H.; Liang, H.-K.; Huang, B.-S. et al. (2018): Prognostic significance of tumor-infiltrating lymphocytes in patients with operable tongue cancer. In: *Radiat Oncol* 13 (1), S. 1–8. DOI: 10.1186/s13014-018-1099-6.

Cornelius, C. P.; Andratschke, M.; Leuning, A.; Hilscher, C. (2009): Neck Dissection. In: *Kopf-Hals-Malignome*. 4. Aufl. München [i.e. Germering] [u.a.]: Zuckschwerdt, S. 52–60.

Crossman, T.; Warburton, F.; Richards, M. A.; Smith, H.; Ramirez, A.; Forbes, L. J.L. (2016): Role of general practice in the diagnosis of oral cancer. In: *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* 54 (2), S. 208–212. DOI: 10.1016/j.bjoms.2015.11.003.

Dahlstrom, K. R.; Adler-Storthz, K.; Etzel, C. J.; Liu, Z.; Dillon, L.; El-Naggar, A. K. et al. (2003): Human Papillomavirus Type 16 Infection and Squamous Cell Carcinoma of the Head and Neck in Never-Smokers: A Matched Pair Analysis. In: *Clin Cancer Res* 9 (7), S. 2620–2626. Online verfügbar unter <http://clincancerres.aacrjournals.org/content/clin-cancerres/9/7/2620.full.pdf>.

Ehardt, H.; Reichart, P. A. (2009): Curriculum spezielle Pathologie für Zahnmediziner. Allgemeine Entzündungslehre, Tumoren und tumorartige Läsionen der Mundschleimhaut, Erkrankungen der Haut mit oralen Manifestationen, systemische Erkrankungen, Erkrankungen der Speicheldrüsen, Zysten im Kiefer- und Gesichtsbereich, odontogene Tumoren, Erkrankungen der Knochen, Zahnimplantate. Berlin: Quintessenz-Verl. (Curriculum), zuletzt geprüft am 19.01.2020.

El-Naggar, A. K.; Chan, J. K. C.; Grandis, J. R.; Takata, T.; Slotweg, P. J. (Hg.) (2017): WHO classification of head and neck tumours. 4th edition. Lyon: International Agency for Research on Cancer (World Health Organization classification of tumours, 9 (in the 4th edition)).

Falk, R. T.; Pickle, L. W.; Brown, L. M.; Mason, T. J.; Buffler, P. A.; Fraumeni, J. F. (1989): Effect of Smoking and Alcohol Consumption on Laryngeal Cancer Risk in

- Coastal Texas. In: *Cancer Res* 49 (14), S. 4024–4029. Online verfügbar unter <https://cancerres.aacrjournals.org/content/canres/49/14/4024.full.pdf>.
- Fang, J.; Li, X.; Ma, D.; Liu, X.; Chen, Y.; Wang, Y. et al. (2017): Prognostic significance of tumor infiltrating immune cells in oral squamous cell carcinoma. In: *BMC cancer* 17 (1), S. 375. DOI: 10.1186/s12885-017-3317-2.
- Fehrenbacher, L.; Spira, A.; Ballinger, M.; Kowanetz, M.; Vansteenkiste, J.; Mazieres, J. et al. (2016): Atezolizumab versus docetaxel for patients with previously treated non-small-cell lung cancer (POPLAR): a multicentre, open-label, phase 2 randomised controlled trial. In: *Lancet (London, England)* 387 (10030), S. 1837–1846. DOI: 10.1016/S0140-6736(16)00587-0.
- Fleischer, B. (2010): Physiologie und Pathophysiologie des Immunsystems. In: Volker Kiefel (Hg.): *Transfusionsmedizin und Immunhämatologie. Grundlagen - Therapie - Methodik*. 4. überarbeitete und erweiterte Auflage. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag Berlin Heidelberg, S. 63–78.
- Franceschi, S.; Talamini, R.; Barra, S.; Barón, A. E.; Negri, E.; Bidoli, E. et al. (1990): Smoking and Drinking in Relation to Cancers of the Oral Cavity, Pharynx, Larynx, and Esophagus in Northern Italy. In: *Cancer Res* 50 (20), S. 6502–6507. Online verfügbar unter <https://cancerres.aacrjournals.org/content/canres/50/20/6502.full.pdf>.
- Frare, J-C; Sawazaki-Calone, I.; Ayroza-Rangel, A-L-C; Bueno, A-G; Morais, C-F de; Nagai, H-M et al. (2016): Histopathological grading systems analysis of oral squamous cell carcinomas of young patients. In: *Medicina oral, patologia oral y cirugia bucal* 21 (3), e285-98. DOI: 10.4317/medoral.20953.
- Fridman, W. H.; Pagès, F.; Sautès-Fridman, C.; Galon, J. (2012): The immune contexture in human tumours: Impact on clinical outcome. In: *Nature Reviews Cancer* 12 (4), S. 298–306. DOI: 10.1038/nrc3245.
- Frisch, M.; Biggar, R.J.; Engels, E. A.; Goedert, J. J.; Group, for the AIDS-Cancer Match Registry Study (2001): Association of Cancer With AIDS-Related Immunosuppression in Adults. In: *JAMA* 285 (13), S. 1736–1745. DOI: 10.1001/jama.285.13.1736.
- Galon, J.; Fox, B. A.; Bifulco, C. B.; Masucci, G.; Rau, T.; Botti, G. et al. (2016): Immunoscore and Immunoprofiling in cancer: an update from the melanoma and immunotherapy bridge 2015. In: *J Transl Med* 14 (1), S. 1–6. DOI: 10.1186/s12967-016-1029-z.

- Galon, J.; Mlecnik, B.; Bindea, G.; Angell, H. K.; Berger, A.; Lagorce, C. et al. (2014): Towards the introduction of the 'Immunoscore' in the classification of malignant tumours. In: *The Journal of Pathology* 232 (2), S. 199–209. DOI: 10.1002/path.4287.
- Gentles, A. J.; Newman, A. M.; Liu, C. L.; Bratman, S. V.; Feng, W.; Kim, D. et al. (2015): The prognostic landscape of genes and infiltrating immune cells across human cancers. In: *Nature medicine* 21 (8), S. 938–945. DOI: 10.1038/nm.3909.
- Geus, J-L de; Wambier, L-M; Loguercio, A-D; Reis, A. (2019 Mar 1): The smokeless tobacco habit and DNA damage: A systematic review and meta-analysis. Spain.
- Götz, C.; Drecoll, E.; Straub, M.; Bissinger, O.; Wolff, K.-D.; Kolk, A. (2016): Impact of HPV infection on oral squamous cell carcinoma. In: *Oncotarget* 7 (47), S. 76704-76712. DOI: 10.18632/oncotarget.12501.
- Hanakawa, H.; Orita, Y.; Sato, Y.; Takeuchi, M.; Ohno, K.; Gion, Y. et al. (2014): Regulatory T-cell infiltration in tongue squamous cell carcinoma. In: *Acta oto-laryngologica* 134 (8), S. 859–864. DOI: 10.3109/00016489.2014.918279.
- Hashibe, M.; Brennan, P.; Chuang, S.-C.; Boccia, S.; Castellsague, X.r; Chen, C. et al. (2009): Interaction between tobacco and alcohol use and the risk of head and neck cancer: pooled analysis in the International Head and Neck Cancer Epidemiology Consortium. In: *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention: a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology* 18 (2), S. 541–550. DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-08-0347.
- Hof, H.; Schlüter, D. (Hg.) (2019): Medizinische Mikrobiologie. 7., vollständig überarbeitete und erweiterte Auflage. Stuttgart: Thieme (Duale Reihe).
- Howaldt, H. P.; Reicherts, M.; Blecher, Ch. (2000): Mundhöhlenkarzinom. In: *Onkologe* 6 (6), S. 573–583. DOI: 10.1007/s007610070095.
- Ihrler, S.; Weiler, C. (2009): Tumorentitäten und pathologische Grundlagen. In: *Kopf-Hals-Malignome*. 4. Aufl. München [i.e. Germering] [u.a.]: Zuckschwerdt, S. 1–8.
- Iwakura, Y.; Nakae, S.; Saijo, S.; Ishigame, H. (2008): The roles of IL-17A in inflammatory immune responses and host defense against pathogens. In: *Immunological reviews* 226, S. 57–79. DOI: 10.1111/j.1600-065X.2008.00699.x.
- Jesinghaus, M.; Steiger, K.; Slotta-Huspenina, J.; Drecoll, E.; Pfarr, N.; Meyer, P. et al. (2017): Increased intraepithelial CD3+ T-lymphocytes and high PD-L1 expression on tumor cells are associated with a favorable prognosis in esophageal squamous cell carcinoma and allow prognostic immunogenic subgrouping. In: *Oncotarget* 8 (29), S. 46756–46768. DOI: 10.18632/oncotarget.18606.

- Johnson, N.W.; Jayasekara, P.; Amarasinghe, A. A. H. K. (2011): Squamous cell carcinoma and precursor lesions of the oral cavity: epidemiology and aetiology. In: *Periodontology 2000* 57 (1), S. 19–37. DOI: 10.1111/j.1600-0757.2011.00401.x.
- Kalden J.; Eger G. (2010): Antigenprozessierung und -präsentation. In: Heiner Greten, Franz Rinninger und Tim Greten (Hg.): *Innere Medizin*. Stuttgart: Georg Thieme Verlag.
- Kaminagakura, E.; Villa, L. L.; Andreoli, M. A.; Sobrinho, J. S.; Vartanian, J. G.; Soares, F. A. et al. (2012): High-risk human papillomavirus in oral squamous cell carcinoma of young patients. In: *International Journal of Cancer* 130 (8), S. 1726–1732. DOI: 10.1002/ijc.26185.
- Kaufmann, S. H. E. (2009): T-Zellen. In: Helmut Hahn, Stefan H. E. Kaufmann, Thomas F. Schulz und Sebastian Suerbaum (Hg.): *Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie*. 6., komplett überarbeitete Auflage. Heidelberg: Springer (Springer-Lehrbuch), S. 76–90.
- Königshoff, M.; Brandenburger, T.; Duszenko, M. (2018): *Kurzlehrbuch Biochemie*. Stuttgart: Georg Thieme Verlag.
- Lakshmi Narendra, B.; Eshvendar, K.; Shantikumar, S.; Ramakrishna, S. (2013): Immune system: a double-edged sword in cancer. In: *Inflamm. Res.* 62 (9), S. 823–834. DOI: 10.1007/s00011-013-0645-9.
- Lechner, A.; Schlößer, H.; Rothschild, S. I.; Thelen, M.; Reuter, S.; Zentis, P. et al. (2017): Characterization of tumor-associated T-lymphocyte subsets and immune checkpoint molecules in head and neck squamous cell carcinoma. In: *Oncotarget* 8 (27), S. 44418–44433. DOI: 10.18632/oncotarget.17901.
- Lee, J.-J.; Chang, Y.-L.; Lai, W.-L.; Ko, J.-Y.; Kuo, M. Y.-P.; Chiang, C.-P. et al. (2011): Increased prevalence of interleukin-17-producing CD4(+) tumor infiltrating lymphocytes in human oral squamous cell carcinoma. In: *Head & neck* 33 (9), S. 1301–1308. DOI: 10.1002/hed.21607.
- Lewin, F.; Norell, S. E.; Johansson, H.; Gustavsson, P.; Wennerberg, J.; Biörklund, A.; Rutqvist, L. E. (1998): Smoking tobacco, oral snuff, and alcohol in the etiology of squamous cell carcinoma of the head and neck. In: *Cancer* 82 (7), S. 1367–1375. DOI: 10.1002/(SICI)1097-0142(19980401)82:7<1367::AID-CNCR21>3.0.CO;2-3.
- Li, N.; Zhang, C.; Chen, Z.; Bai, L.; Nie, M.; Zhou, B.; Xu, H. (2015): Interleukin 17A and interleukin 17F polymorphisms are associated with oral squamous cell carcinoma

susceptibility in a Chinese population. In: *Journal of oral and maxillofacial surgery: official journal of the American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons* 73 (2), S. 267–273. DOI: 10.1016/j.joms.2014.09.009.

Lim, K. P.; Chun, N. A. L.; Ismail, S. M.; Abraham, M. T.; Yusoff, M. N.; Zain, R. B. et al. (2014): CD4+CD25hiCD127low regulatory T cells are increased in oral squamous cell carcinoma patients. In: *PLOS ONE* 9 (8), e103975. DOI: 10.1371/journal.pone.0103975.

Liu, S.; Liu, D.; Li, J.; Zhang, D.; Chen, Q. (2016): Regulatory T cells in oral squamous cell carcinoma. In: *Journal of Oral Pathology & Medicine* 45 (9), S. 635–639. DOI: 10.1111/jop.12445.

Lutz, J.; Scher, B.; Müller, S.; Jäger, L.; Reiser, M. (2009): Bildgebende Diagnostik: MRT, CT, Sonographie, Angiographie, PET und Szintigraphie. In: *Kopf-Hals-Malignome*. 4. Aufl. München [i.e. Germering] [u.a.]: Zuckschwerdt, S. 25–31, zuletzt geprüft am 20.01.2020.

Majchrzak, E.; Szybiak, B.; Wegner, A.; Pienkowski, P.; Pazdrowski, J.; Luczewski, L. et al. (2014): Oral Cavity and Oropharyngeal Squamous Cell Carcinoma in Young Adults – A Review of the Current Literature. In: *1 48* (1). Online verfügbar unter <https://www.radioloncol.com/index.php/ro/article/download/1720/1607>.

Mast, G.n; Zimmermann, F.; Ihrler, S.; Matthias, C.; Kolk, A. (2009): *Kopf-Hals-Malignome*. 4. Aufl. München [i.e. Germering] [u.a.]: Zuckschwerdt.

Mehrotra, R.; Yadav, S. (2006): Oral squamous cell carcinoma: Etiology, pathogenesis and prognostic value of genomic alterations. In: *Indian Journal of Cancer* 43 (2), S. 60. DOI: 10.4103/0019-509X.25886.

Milanes-Yearsley, M.; Hammond, M. E. H.; Pajak, T. F.; Cooper, J. S.; Chang, C.; Griffin, T. et al. (2002): Tissue micro-array: a cost and time-effective method for correlative studies by regional and national cancer study groups. In: *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc* 15 (12), S. 1366–1373. DOI: 10.1097/01.MP.0000036345.18944.22.

Mlecnik, B.; Bindea, G.; Pagès, F.; Galon, J. (2011): Tumor immunosurveillance in human cancers. In: *Cancer metastasis reviews* 30 (1), S. 5–12. DOI: 10.1007/s10555-011-9270-7.

- Motz, G.T.; Coukos, G. (2013): Deciphering and Reversing Tumor Immune Suppression. In: *Immunity* 39 (1), S. 61–73. DOI: 10.1016/j.immuni.2013.07.005.
- Moy, J. D.; Moskovitz, J. M.; Ferris, R. L. (2017): Biological mechanisms of immune escape and implications for immunotherapy in head and neck squamous cell carcinoma. In: *European journal of cancer (Oxford, England: 1990)* 76, S. 152–166. DOI: 10.1016/j.ejca.2016.12.035.
- Nelke, K. (2013): Human papillomavirus and its influence on head and neck cancer predisposition. Online verfügbar unter <https://core.ac.uk/download/pdf/27266181.pdf>, zuletzt geprüft am 04.11.2019.
- Neville, B. W.; Day, T. A. (2002): Oral Cancer and Precancerous Lesions. In: *CA: A Cancer Journal for Clinicians* 52 (4), S. 195–215. DOI: 10.3322/canjclin.52.4.195.
- Nguyen, N.; Bellile, E.; Thomas, D.; McHugh, J.; Rozek, L.; Virani, S. et al. (2016): Tumor infiltrating lymphocytes and survival in patients with head and neck squamous cell carcinoma. In: *Head & neck* 38 (7), S. 1074–1084. DOI: 10.1002/hed.24406.
- Ogden, G. R. (2005): Alcohol and oral cancer. In: *Alcohol* 35 (3), S. 169–173. DOI: 10.1016/j.alcohol.2005.04.002.
- Papachristofilou, A.; Oduncu, F. S.; Zimmermann, F.; Mast, G. (2009): Nachsorge und Tumorkontrolle aus chirurgischer, strahlentherapeutischer und internistischer Sicht. In: *Kopf-Hals-Malignome*. 4. Aufl. München [i.e. Germering] [u.a.]: Zuckschwerdt, S. 167–171, zuletzt geprüft am 20.01.2020.
- Parkin, D. M.; Bray, F.; Ferlay, J.; Pisani, P. (2005): Global Cancer Statistics, 2002. In: *CA: A Cancer Journal for Clinicians* 55 (2), S. 74–108. DOI: 10.3322/canjclin.55.2.74.
- Pigorsch, S.; Gosau, M.; Panzer, M.; Zimmermann, F.; Ehrenfeld, M. (2009): Tumoren der Mundhöhle und Lippen. In: *Kopf-Hals-Malignome*. 4. Aufl. München [i.e. Germering] [u.a.]: Zuckschwerdt, S. 243–255, zuletzt geprüft am 20.01.2020.
- Protti, M. P.; Monte, L. de; Monte, L. D.; Di Lullo, G.; Lullo, G. D. (2014): Tumor antigen-specific CD4+ T cells in cancer immunity: from antigen identification to tumor prognosis and development of therapeutic strategies. In: *Tissue Antigens* 83 (4), S. 237–246. DOI: 10.1111/tan.12329.
- Przybylski, K.; Majchrzak, E.; Weselik, L.; Golusinski, W. (2018): Immunotherapy of head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC). Immune checkpoint blockade. In: *Otolaryngologia polska = The Polish otolaryngology* 72 (6), S. 10–16. DOI: 10.5604/01.3001.0012.4367.

Remmele, W.; Stegner, H. E. (1987): Vorschlag zur einheitlichen Definition eines Immunreaktiven Score (IRS) für den immunhistochemischen Östrogenrezeptor-Nachweis (ER-ICA) im Mammakarzinomgewebe. In: *Pathologe* 8 (3), S. 138–140.

Renner, C.; Zippelius, A.; Riethmüller, G.; Knuth, A. (2010): Tumorimmunologie. In: Wolfgang Hiddemann (Hg.): *Die Onkologie*. 2., aktualisierte Aufl. Berlin: Springer, S. 325–345. Online verfügbar unter https://link-springer-com.emedien.ub.uni-muenchen.de/content/pdf/10.1007%2F978-3-540-79725-8_16.pdf, zuletzt geprüft am 30.01.2020.

Robert Koch-Institut (2017): Krebs in Deutschland für 2013/2014. Hg. v. Robert Koch-Institut und Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V. Berlin.

Rodriguez, T. (2004): Risk factors for oral and pharyngeal cancer in young adults. In: *Oral Oncology* 40 (2), S. 207–213. DOI: 10.1016/j.oraloncology.2003.08.014.

Röper, B.; Hölzel, D. (2009): Prognostische Parameter. In: *Kopf-Hals-Malignome*. 4. Aufl. München [i.e. Germering] [u.a.]: Zuckschwerdt, zuletzt geprüft am 20.01.2020.

Ruiter, E. J. de; Ooft, M. L.; Devriese, L. A.; Willems, S. M. (2017): The prognostic role of tumor infiltrating T-lymphocytes in squamous cell carcinoma of the head and neck: A systematic review and meta-analysis. In: *Oncoimmunology* 6 (11), e1356148. DOI: 10.1080/2162402X.2017.1356148.

Santos, H.-B.-de-P.; dos Santos, T.-K.-G.; Paz, A.-R.; Cavalcanti, Y.-W.; Nonaka, C.-F.-W.; Godoy, G.-P.; Alves, P.-M. (2016): Clinical findings and risk factors to oral squamous cell carcinoma in young patients: A 12-year retrospective analysis. In: *Medicina oral, patologia oral y cirugia bucal* 21 (2), e151-6. DOI: 10.4317/medoral.20770.

Schuster, M.; Nechansky, A.; Kircheis, R. (2006): Cancer immunotherapy. In: *Biotechnology journal* 1 (2), S. 138–147. DOI: 10.1002/biot.200500044.

Seminario, I.; Descamps, G.; Dupont, S.; Marrez, L. de; Laigle, J.-A.; Lechien, J. R. et al. (2019): Infiltration of FoxP3+ Regulatory T Cells is a Strong and Independent Prognostic Factor in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. In: *Cancers* 11 (2). DOI: 10.3390/cancers11020227.

Shimizu, S.; Hiratsuka, H.; Koike, K.; Tsuchihashi, K.; Sonoda, T.; Ogi, K. et al. (2019): Tumor-infiltrating CD8+ T-cell density is an independent prognostic marker for oral squamous cell carcinoma. In: *Cancer medicine* 8 (1), S. 80–93. DOI: 10.1002/cam4.1889.

Spranger, S. (2016): Mechanisms of tumor escape in the context of the T-cell-inflamed and the non-T-cell-inflamed tumor microenvironment. In: *International immunology* 28 (8), S. 383–391. DOI: 10.1093/intimm/dxw014.

Stenzinger, A.; Kriegsmann, M.; Kraywinkel, K.; Weichert, W. (2014): Pathologie der malignen Kopf-Hals-Tumoren. In: *Onkologie* 20 (2), S. 116–129. DOI: 10.1007/s00761-013-2584-z.

Subramaniam, S. S.; Paterson, C.; McCauk, J. A. (2019): Immunotherapy in the management of squamous cell carcinoma of the head and neck. In: *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. DOI: 10.1016/j.bjoms.2019.08.002.

The Global Cancer Observatory (2019): 1-Lip-oral-cavity-fact-sheet. Online verfügbar unter <http://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/cancers/1-Lip-oral-cavity-fact-sheet.pdf>, zuletzt geprüft am 25.11.2019.

The Global Cancer Observatory (2019): 276-germany-fact-sheets. Online verfügbar unter <http://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/populations/276-germany-fact-sheets.pdf>, zuletzt geprüft am 25.11.2019.

Ulfig, N. (2015): Kurzlehrbuch Histologie. 4., korrigierte Auflage. Stuttgart, New York: Georg Thieme Verlag.

Vigneswaran, N.; Williams, M. D. (2014): Epidemiologic Trends in Head and Neck Cancer and Aids in Diagnosis. In: *Oral and Maxillofacial Surgery Clinics* 26 (2), S. 123–141. DOI: 10.1016/j.coms.2014.01.001.

Wang, L.; Yi, T.; Kortylewski, M.; Pardoll, D. M.; Zeng, D.; Yu, H. (2009): IL-17 can promote tumor growth through an IL-6-Stat3 signaling pathway. In: *The Journal of experimental medicine* 206 (7), S. 1457–1464. DOI: 10.1084/jem.20090207.

Warnakulasuriya, S. (2009): Global epidemiology of oral and oropharyngeal cancer. In: *Oral Oncology* 45 (4-5), S. 309–316. DOI: 10.1016/j.oraloncology.2008.06.002.

Waßmuth, R. (2005): Einführung in das HLA-System. 2., aktualisierte und erweiterte Auflage. Landsberg/Lech: ecomed Medizin.

Watanabe, Y.; Katou, F.; Ohtani, H.; Nakayama, T.; Yoshie, O.; Hashimoto, K. (2010): Tumor-infiltrating lymphocytes, particularly the balance between CD8(+) T cells and CCR4(+) regulatory T cells, affect the survival of patients with oral squamous cell carcinoma. In: *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics* 109 (5), S. 744–752. DOI: 10.1016/j.tripleo.2009.12.015.

Weiler, C.; Ihrler, S.; Schiel, S. (2009): Schnellschnittuntersuchung. In: Kopf-Hals-Malignome. 4. Aufl. München [i.e. Germering] [u.a.]: Zuckschwerdt, S. 61–62.

Wittekind, C. (2010): TNM-Klassifikation maligner Tumoren. 7. Aufl. Weinheim: Wiley-Blackwell. Online verfügbar unter <https://opacplus.bsb-muenchen.de/search?isbn=3527327592&db=100>.

Wolf, G. T.; Chepeha, D. B.; Bellile, E.; Nguyen, A.; Thomas, D.; McHugh, J. (2015): Tumor infiltrating lymphocytes (TIL) and prognosis in oral cavity squamous carcinoma: a preliminary study. In: *Oral Oncology* 51 (1), S. 90–95. DOI: 10.1016/j.oraloncology.2014.09.006.

Wolff, K.-D.; Follmann, M.; Nast, A. (2012): The diagnosis and treatment of oral cavity cancer. In: *Deutsches Arzteblatt international* 109 (48), S. 829–835. DOI: 10.3238/arztebl.2012.0829.

Wolff, K.-D.; Al-Nawas B.; Al-Sharif U.; Beck J.; Bikowski K.; Bissinger O.; Böhme P.; Bönnte- Hieronymus I.; Bootz F.; Bozzato A.; Budach W.; Burkhardt A.; Danker H.; Eberhardt W.; Engers K.; Fietkau R.; Frerich B.; Gauler T.; Gehrman-Weide K.; Germann G.; Giannakopoulos N.; Gittler-Hebestreit N.; Grötz K.; Hertrampf K.; Hoffmann J.; Horch R.; Ihrler S.; Kaufmann R.; Kehrer A.; Keilholz U.; Klußmann P.; Kolk A.; Lell M.; Lübbe A.; Mantey W.; Mischkowski R.; Moll R.; Nieberler M.; Nusser-Müller-Busch R.; Pistner H.; Paradies K.; Rau A.; Reichert T.; Reinert S.; Schilling B.; Schliephake H.; Schmidt K.; Schmitter M.; Singer S.; Terheyden H.; Troost E.; Waterboer T.; Westhofen M.; Weitz J.; Wirz S.; Wittlinger M.; Zöphel K. Leitlinienprogramm Onkologie (Deutsche Krebsgesellschaft, Deutsche Krebshilfe, AWMF): S3-Leitlinie Diagnostik und Therapie des Mundhöhlenkarzinoms, Langversion 3.0, 2021, AWMF Registernummer: 007/100OL <https://www.leitlinienprogramm-onkologie.de/leitlinien/mundhoehlenkarzinom/> (abgerufen am: 05.10.2021)

Zhang, B.; Wu, C.; Zhang, Z.; Yan, K.; Li, C.; Li, Y.; Li, L. (2019): CXCL12 is associated with FoxP3+ tumor-infiltrating lymphocytes and affects the survival of patients with oral squamous cell carcinoma. In: *Oncology Letters* 18 (2), S. 1099–1106. DOI: 10.3892/ol.2019.10415.

Zhou, C.; Wu, Y.; Jiang, L.; Li, Z.; Diao, P.; Wang, D. et al. (2018): Density and location of CD3+ and CD8+ tumor-infiltrating lymphocytes correlate with prognosis of oral squamous cell carcinoma. In: *Journal of Oral Pathology & Medicine* 47 (4), S. 359–367. DOI: 10.1111/jop.12698.

Zou, W.; Restifo, N. P. (2010): T(H)17 cells in tumour immunity and immunotherapy. In: *Nat Rev Immunol* 10 (4), S. 248–256. DOI: 10.1038/nri2742.

8 Anhang

8.1 Anhangsverzeichnis

Anhang 1: Korrelation der immunologischen Parameter der Invasionsfront miteinander (CD3i ⁺ bis CD4i ⁺)	70
Anhang 2: Korrelation der immunologischen Parameter der Invasionsfront miteinander (CD4s ⁺ bis CD8s ⁺)	71
Anhang 3: Korrelation der immunologischen Parameter der Invasionsfront miteinander (FOXP3i ⁺ bis IL-17Ai ⁺)	72
Anhang 4: Korrelation der immunologischen Parameter der Invasionsfront miteinander (IL-17As ⁺)	73
Anhang 5: Korrelation der immunologischen Parameter im Tumorzentrum miteinander (CD3i ⁺ bis CD4i ⁺)	74
Anhang 6: Korrelation der immunologischen Parameter im Tumorzentrum miteinander (CD4s ⁺ bis CD8s ⁺)	74
Anhang 7: Korrelation der immunologischen Parameter im Tumorzentrum miteinander (FOXP3i ⁺ bis IL-17Ai ⁺)	76
Anhang 8: Korrelation der immunologischen Parameter im Tumorzentrum miteinander (IL-17As ⁺)	77
Anhang 9: Immunologische Parameter in Korrelation mit Alter und Geschlecht (IF)	78
Anhang 10: Immunologische Parameter in Korrelation mit dem pT- und pN-Status (IF)	80
Anhang 11: Immunologische Parameter in Korrelation mit UICC-Stadien und Grading (IF)	81
Anhang 12: Immunologische Parameter in Korrelation mit Pn1 und L1 (IF)	83
Anhang 13: Immunologische Parameter in Korrelation mit Alter und Geschlecht (TZe)	84
Anhang 14: Immunologische Parameter in Korrelation mit dem pT- und pN-Stadium (TZe)	85
Anhang 15: Immunologische Parameter in Korrelation mit UICC-Stadien und Grading (TZe)	87
Anhang 16: Immunologische Parameter in Korrelation mit Pn1 und L1 (TZe)	88
Anhang 17: Verhältnisse der TIL-Subgruppen in Korrelation mit Alter und Geschlecht (IF)	90
Anhang 18: Verhältnisse der TIL-Subgruppen in Korrelation mit pT- und pN-Status (IF)	92
Anhang 19: Verhältnisse der TIL-Subgruppen in Korrelation mit UICC-Stadien und Grading (IF)	95
Anhang 20: Verhältnisse der TIL-Subgruppen in Korrelation mit Pn1 und L1 (IF)	97
Anhang 21: Verhältnisse der TIL-Subgruppen in Korrelation mit Alter und Geschlecht (TZe)	99
Anhang 22: Verhältnisse der TIL-Subgruppen in Korrelation mit pT- und pN-Stadium (TZe)	101
Anhang 23: Verhältnisse der TIL-Subgruppen in Korrelation mit UICC-Stadien und Grading (TZe)	104
Anhang 24: Verhältnisse der TIL-Subgruppen in Korrelation mit Pn1 und L1 (TZe)	106
Anhang 25: Überlebensstatistik - Korrelation mit intraepithelialen immunologischen Parametern an der IF (SE = Standardfehler)	107
Anhang 26: Überlebensstatistik - Korrelation mit stromalen immunologischen Parametern an der IF	107
Anhang 27: Überlebensstatistik - Korrelation mit intraepithelialen immunologischen Parametern im TZe	107
Anhang 28: Überlebensstatistik - Korrelation mit stromalen immunologischen Parametern im TZe	108
Anhang 29: Multivariate Überlebensanalyse mit stromalen FOXP3 ⁺ -TILs an der IF unter Einbeziehung von Alter, Geschlecht, pT- Stadium, pN-Stadium und Grading	108
Anhang 30: Multivariate Überlebensanalyse mit stromalen FOXP3 ⁺ -TILs innerhalb des TZe unter Einbeziehung von Alter, Geschlecht, pT- Stadium, pN-Stadium und Grading	109
Anhang 31: Überlebensstatistik - Korrelation mit den intraepithelialen TIL-Verhältnissen an der IF	109
Anhang 32: Überlebensstatistik - Korrelation mit den stromalen TIL-Verhältnissen an der IF	110
Anhang 33: Überlebensstatistik - Korrelation mit den intraepithelialen TIL-Verhältnissen innerhalb des TZe	110
Anhang 34: Überlebensstatistik - Korrelation mit den stromalen TIL-Verhältnissen innerhalb des TZe	111
Anhang 35: Multivariate Überlebensanalyse mit stromalem CD8:CD4-Verhältnis innerhalb des TZe unter Einbeziehung von Alter, Geschlecht, pT- Stadium, pN-Stadium und Grading	112

8.2 Anhang: Korrelation der immunologischen Parameter miteinander

	CD3i ⁺ TILs				CD3s ⁺ TILs				CD4i ⁺ TILs			
HLA Klasse I		<i>low</i>	<i>high</i>	<i>Ges.</i>		<i>low</i>	<i>high</i>	<i>Ges.</i>		<i>low</i>	<i>high</i>	<i>Ges.</i>
	<i>low</i>	9	8	17	<i>low</i>	8	9	17	<i>low</i>	6	10	16
	<i>high</i>	10	35	45	<i>high</i>	14	31	45	<i>high</i>	8	36	44
	<i>Ges.</i>	19	43	62	<i>Ges.</i>	22	40	62	<i>Ges.</i>	14	46	60
	<i>p</i>	0,022			<i>p</i>	0,266			<i>p</i>	0,122		
CD3i ⁺ TILs	x					<i>low</i>	<i>high</i>	<i>Ges.</i>		<i>low</i>	<i>high</i>	<i>Ges.</i>
					<i>low</i>	12	7	19	<i>low</i>	7	10	17
					<i>high</i>	10	33	43	<i>high</i>	7	36	43
					<i>Ges.</i>	22	40	62	<i>Ges.</i>	14	46	60
					<i>p</i>	0,002			<i>p</i>	0,041		
CD3s ⁺ TILs					x					<i>low</i>	<i>high</i>	<i>Ges.</i>
									<i>low</i>	10	10	20
									<i>high</i>	4	36	40
									<i>Ges.</i>	14	46	60
									<i>p</i>	<0,001		
CD4i ⁺ TILs									x			

Anhang 1: Korrelation der immunologischen Parameter der Invasionsfront miteinander (CD3i⁺ bis CD4i⁺)

	CD4s ⁺ TILs				CD8i ⁺ TILs				CD8s ⁺ TILs			
HLA Klasse I		<i>low</i>	<i>high</i>	<i>Ges.</i>		<i>low</i>	<i>high</i>	<i>Ges.</i>		<i>low</i>	<i>high</i>	<i>Ges.</i>
	<i>low</i>	7	9	16	<i>low</i>	11	6	17	<i>low</i>	9	8	17
	<i>high</i>	7	37	44	<i>high</i>	14	31	45	<i>high</i>	14	31	45
	<i>Ges.</i>	14	46	60	<i>Ges.</i>	25	37	62	<i>Ges.</i>	23	39	62
	<i>p</i>	0,024			<i>p</i>	0,023			<i>p</i>	0,143		
CD3i ⁺ TILs		<i>low</i>	<i>high</i>	<i>Ges.</i>		<i>low</i>	<i>high</i>	<i>Ges.</i>		<i>low</i>	<i>high</i>	<i>Ges.</i>
	<i>low</i>	8	9	17	<i>low</i>	16	3	19	<i>low</i>	12	7	19
	<i>high</i>	6	37	43	<i>high</i>	9	34	43	<i>high</i>	11	32	43
	<i>Ges.</i>	14	46	60	<i>Ges.</i>	25	37	62	<i>Ges.</i>	23	39	62
	<i>p</i>	0,006			<i>p</i>	<0,001			<i>p</i>	0,007		
CD3s ⁺ TILs		<i>low</i>	<i>high</i>	<i>Ges.</i>		<i>low</i>	<i>high</i>	<i>Ges.</i>		<i>low</i>	<i>high</i>	<i>Ges.</i>
	<i>low</i>	10	10	20	<i>low</i>	11	11	22	<i>low</i>	16	6	22
	<i>high</i>	4	36	40	<i>high</i>	14	26	40	<i>high</i>	7	33	40
	<i>Ges.</i>	14	46	60	<i>Ges.</i>	25	37	62	<i>Ges.</i>	23	39	62
	<i>p</i>	<0,001			<i>p</i>	0,319			<i>p</i>	<0,001		
CD4i ⁺ TILs		<i>low</i>	<i>high</i>	<i>Ges.</i>		<i>low</i>	<i>high</i>	<i>Ges.</i>		<i>low</i>	<i>high</i>	<i>Ges.</i>
	<i>low</i>	10	4	14	<i>low</i>	8	6	14	<i>low</i>	9	5	14
	<i>high</i>	4	42	46	<i>high</i>	16	30	46	<i>high</i>	13	33	46
	<i>Ges.</i>	14	46	60	<i>Ges.</i>	24	36	60	<i>Ges.</i>	22	38	60

Anhang

	p	<0,001			p	0,139			p	0,014					
CD4s ⁺ TILs	x														
		low	9	5	14	low	9	5	14	low	9	5	14		
		high	15	31	46	high	13	33	46	high	13	33	46		
		Ges.	24	36	60	Ges.	22	38	60	Ges.	22	38	60		
		p	0,034			p	0,014			p	0,014				
CD8i ⁺ TILs					x										
								low	13	12	25	high	10	27	37
								high	10	27	37	high	10	27	37
								Ges.	23	39	62	Ges.	23	39	62
								p	0,066			p	0,066		
CD8s ⁺ TILs									x						

Anhang 2: Korrelation der immunologischen Parameter der Invasionsfront miteinander (CD4s⁺ bis CD8s⁺)

	FOXP3i ⁺ TILs				FOXP3s ⁺ TILs				IL-17Ai ⁺ TILs			
HLA Klasse I												
	low	9	8	17	low	4	13	17	low	8	8	16
	high	7	38	45	high	9	36	45	high	13	31	44
	Ges.	16	46	62	Ges.	13	49	62	Ges.	21	39	60
	p	0,003			p	0,793			p	0,147		
CD3i ⁺ TILs												
	low	9	10	19	low	7	12	19	low	11	6	17
	high	7	36	43	high	6	37	43	high	10	33	43
	Ges.	16	46	62	Ges.	13	49	62	Ges.	21	39	60
	p	0,012			p	0,046			p	0,002		
CD3s ⁺ TILs												
	low	10	12	22	low	8	14	22	low	8	12	20
	high	6	34	40	high	5	35	40	high	13	27	40
	Ges.	16	46	62	Ges.	13	49	62	Ges.	21	39	60
	p	0,010			p	0,031			p	0,574		
CD4i ⁺ TILs												
	low	8	6	14	low	5	9	14	low	7	7	14
	high	7	39	46	high	6	40	46	high	14	32	46
	Ges.	15	45	60	Ges.	11	49	60	Ges.	21	39	60
	p	0,001			p	0,056			p	0,185		
CD4s ⁺ TILs												
	low	7	7	14	low	5	9	14	low	7	7	14
	high	8	38	46	high	6	40	46	high	14	32	46
	Ges.	15	45	60	Ges.	11	49	60	Ges.	21	39	60
	p	0,013			p	0,056			p	0,185		
CD8i ⁺ TILs												
	low	11	14	25	low	6	19	25	low	11	13	24

Anhang

	high	5	32	37	high	7	30	37	high	10	26	36
	Ges.	16	46	62	Ges.	13	49	62	Ges.	21	39	60
	p	0,010			p	0,711			p	0,156		
CD8s⁺ TILs		low	high	Ges.		low	high	Ges.		low	high	Ges.
	low	11	12	23	low	8	15	23	low	11	11	22
	high	5	34	39	high	5	34	39	high	10	28	38
	Ges.	16	46	62	Ges.	13	49	62	Ges.	21	39	60
	p	0,003			p	0,052			p	0,066		
FOXP3i⁺ TILs	x					low	high	Ges.		low	high	Ges.
					low	5	11	16	low	11	4	15
					high	8	38	46	high	10	35	45
					Ges.	13	49	62	Ges.	21	39	60
					p	0,258			p	<0,001		
FOXP3s⁺ TILs	x									low	high	Ges.
									low	8	3	11
									high	13	36	49
									Ges.	21	39	60
									p	0,003		
IL-17Ai⁺ TILs									x			

Anhang 3: Korrelation der immunologischen Parameter der Invasionsfront miteinander (FOXP3i⁺ bis IL-17Ai⁺)

	IL-17As⁺ TILs			
HLA Klasse I		low	high	Ges.
	low	10	6	16
	high	16	26	42
	Ges.	26	32	58
	p	0,098		
CD3i⁺ TILs		low	high	Ges.
	low	12	4	16
	high	14	28	42
	Ges.	26	32	58
	p	0,004		
CD3s⁺ TILs		low	high	Ges.
	low	12	7	19
	high	14	25	39
	Ges.	26	32	58
	p	0,051		
CD4i⁺ TILs		low	high	Ges.
	low	9	5	14
	high	17	27	44
	Ges.	26	32	58
	p	0,096		

CD4s⁺ TILs		low	high	Ges.
	low	10	4	14
	high	16	28	44
	Ges.	26	32	58
	p	0,021		
CD8i⁺ TILs		low	high	Ges.
	low	13	10	23
	high	13	22	35
	Ges.	26	32	58
	p	0,152		
CD8s⁺ TILs		low	high	Ges.
	low	14	7	21
	high	12	25	37
	Ges.	26	32	58
	p	0,011		
FOXP3i⁺ TILs		low	high	Ges.
	low	8	6	14
	high	18	26	44
	Ges.	26	32	58
	p	0,296		
FOXP3s⁺ TILs		low	high	Ges.
	low	7	4	11
	high	19	28	47
	Ges.	26	32	58
	p	0,296		
IL-17Ai⁺ TILs		low	high	Ges.
	low	14	6	20
	high	12	26	38
	Ges.	26	32	58
	p	0,005		

Anhang 4: Korrelation der immunologischen Parameter der Invasionsfront miteinander (IL-17As⁺)

	CD3i⁺ TILs				CD3s⁺ TILs				CD4i⁺ TILs			
HLA Klasse I		low	high	Ges.		low	high	Ges.		low	high	Ges.
	low	11	6	17	low	7	10	17	low	7	10	17
	high	9	31	40	high	8	32	40	high	7	28	35
	Ges.	20	37	57	Ges.	15	42	57	Ges.	14	38	52
	p	0,002			p	0,113			p	0,181		
CD3i⁺ TILs	x					low	high	Ges.		low	high	Ges.
					low	10	10	20	low	5	11	16
					high	5	32	37	high	9	27	36
					Ges.	15	42	57	Ges.	14	38	52
					p	0,005			p	0,738		

Anhang

CD3s ⁺ TILs		x		low	high	Ges.
			low	5	7	12
			high	9	31	40
			Ges.	14	38	52
	p	0,267				
CD4i ⁺ TILs			x			

Anhang 5: Korrelation der immunologischen Parameter im Tumorzentrum miteinander (CD3i⁺ bis CD4i⁺)

	CD4s ⁺ TILs				CD8i ⁺ TILs				CD8s ⁺ TILs			
HLA Klasse I		low	high	Ges.		low	high	Ges.		low	high	Ges.
	low	7	10	17	low	11	6	17	low	9	8	17
	high	6	28	34	high	6	34	40	high	8	32	40
	Ges.	13	38	51	Ges.	17	40	57	Ges.	17	40	57
	p	0,093			p	<0,001			p	0,025		
CD3i ⁺ TILs		low	high	Ges.		low	high	Ges.		low	high	Ges.
	low	7	9	16	low	14	6	20	low	12	8	20
	high	6	29	35	high	3	34	37	high	5	32	37
	Ges.	13	38	51	Ges.	17	40	57	Ges.	17	40	57
	p	0,043			p	<0,001			p	<0,001		
CD3s ⁺ TILs		low	high	Ges.		low	high	Ges.		low	high	Ges.
	low	8	4	12	low	9	6	15	low	11	4	15
	high	5	34	39	high	8	34	42	high	6	36	42
	Ges.	13	38	51	Ges.	17	40	57	Ges.	17	40	57
	p	0,001			p	0,005			p	<0,001		
CD4i ⁺ TILs		low	high	Ges.		low	high	Ges.		low	high	Ges.
	low	8	5	13	low	5	9	14	low	7	7	14
	high	5	33	38	high	9	29	38	high	8	30	38
	Ges.	13	38	51	Ges.	14	38	52	Ges.	15	37	52
	p	0,001			p	0,485			p	0,041		
CD4s ⁺ TILs	x					low	high	Ges.		low	high	Ges.
					low	6	7	13	low	7	6	13
					high	8	30	38	high	7	31	38
					Ges.	14	37	51	Ges.	14	37	51
					p	0,147			p	0,013		
CD8i ⁺ TILs					x					low	high	Ges.
									low	11	6	17
									high	6	34	40
									Ges.	17	40	57
									p	<0,001		
CD8s ⁺ TILs									x			

Anhang 6: Korrelation der immunologischen Parameter im Tumorzentrum miteinander (CD4s⁺ bis CD8s⁺)

Anhang

	FOXP3i ⁺ TILs				FOXP3s ⁺ TILs				IL-17Ai ⁺ TILs			
HLA Klasse I		low	high	Ges.		low	high	Ges.		low	high	Ges.
	low	5	12	17	low	7	10	17	low	13	4	17
	high	5	35	40	high	10	30	40	high	12	23	35
	Ges.	10	47	57	Ges.	17	40	57	Ges.	25	27	52
	p	0,145			p	0,342			p	0,004		
CD3i ⁺ TILs		low	high	Ges.		low	high	Ges.		low	high	Ges.
	low	7	13	20	low	9	11	20	low	11	5	16
	high	3	34	37	high	8	29	37	high	14	22	36
	Ges.	10	47	57	Ges.	17	40	57	Ges.	25	27	52
	p	0,024			p	0,078			p	0,048		
CD3s ⁺ TILs		low	high	Ges.		low	high	Ges.		low	high	Ges.
	low	5	10	15	low	10	5	15	low	7	5	12
	high	5	37	42	high	7	35	42	high	18	22	40
	Ges.	10	47	57	Ges.	17	40	57	Ges.	25	27	52
	p	0,108			p	0,001			p	0,517		
CD4i ⁺ TILs		low	high	Ges.		low	high	Ges.		low	high	Ges.
	low	7	7	14	low	5	9	14	low	8	6	14
	high	1	37	38	high	10	28	38	high	17	21	38
	Ges.	8	44	52	Ges.	15	37	52	Ges.	25	27	52
	p	<0,001			p	0,731			p	0,536		
CD4s ⁺ TILs		low	high	Ges.		low	high	Ges.		low	high	Ges.
	low	3	10	13	low	8	5	13	low	7	6	13
	high	4	34	38	high	7	31	38	high	18	20	38
	Ges.	7	44	51	Ges.	15	36	51	Ges.	25	26	51
	p	0,352			p	0,006			p	0,755		
CD8i ⁺ TILs		low	high	Ges.		low	high	Ges.		low	high	Ges.
	low	6	11	17	low	8	9	17	low	12	2	14
	high	4	36	40	high	9	31	40	high	13	25	38
	Ges.	10	47	57	Ges.	17	40	57	Ges.	25	27	52
	p	0,031			p	0,111			p	0,001		
CD8s ⁺ TILs		low	high	Ges.		low	high	Ges.		low	high	Ges.
	low	7	10	17	low	9	8	17	low	10	5	15
	high	3	37	40	high	8	32	40	high	15	22	37
	Ges.	10	47	57	Ges.	17	40	57	Ges.	25	27	52
	p	0,005			p	0,025			p	0,127		
FOXP3i ⁺ TILs	x					low	high	Ges.		low	high	Ges.
					low	4	6	10	low	5	3	8
					high	13	34	47	high	20	24	44
					Ges.	17	40	57	Ges.	25	27	52
					p	0,464			p	0,458		
FOXP3s ⁺ TILs					x					low	high	Ges.
									low	8	7	15
									high	17	20	37

Anhang

			Ges.	25	27	52
			p	0,762		
IL-17Ai ⁺ TILs			x			

Anhang 7: Korrelation der immunologischen Parameter im Tumorzentrum miteinander (FOXP3i⁺ bis IL-17Ai⁺)

		IL-17As ⁺ TILs			
HLA Klasse I		low	high	Ges.	
	low	12	5	17	
	high	15	20	35	
	Ges.	27	25	52	
	p	0,080			
CD3i ⁺ TILs		low	high	Ges.	
	low	13	3	16	
	high	14	22	36	
	Ges.	27	25	52	
	p	0,007			
CD3s ⁺ TILs		low	high	Ges.	
	low	7	5	12	
	high	20	20	40	
	Ges.	27	25	52	
	p	0,746			
CD4i ⁺ TILs		low	high	Ges.	
	low	10	4	14	
	high	17	21	38	
	Ges.	27	25	52	
	p	0,121			
CD4s ⁺ TILs		low	high	Ges.	
	low	9	4	13	
	high	18	20	38	
	Ges.	27	24	51	
	p	0,211			
CD8i ⁺ TILs		low	high	Ges.	
	low	10	4	14	
	high	17	21	38	
	Ges.	27	25	52	
	p	0,121			
CD8s ⁺ TILs		low	high	Ges.	
	low	11	4	15	
	high	16	21	37	
	Ges.	27	25	52	
	p	0,049			

FOXP3i⁺ TILs		low	high	Ges.
	low	5	3	8
	high	22	22	44
	Ges.	27	25	52
	p	0,705		
FOXP3s⁺ TILs		low	high	Ges.
	low	9	6	15
	high	18	19	37
	Ges.	27	25	52
	p	0,548		
IL-17Ai⁺ TILs		low	high	Ges.
	low	17	8	25
	high	10	17	27
	Ges.	27	25	52
	p	0,031		

Anhang 8: Korrelation der immunologischen Parameter im Tumorzentrum miteinander (IL-17As⁺)

8.3 Anhang: Immunologische Parameter in Korrelation mit klinikpathologischen und histopathologischen Daten

	Alter (<: unterhalb Medians, >: Median und darüber)				Geschlecht (w: weiblich, m: männlich)			
HLA Klasse I		<	>	Ges.		w	m	Ges.
	low	10	7	17	low	6	11	17
	high	18	27	45	high	17	28	45
	Ges.	28	34	62	Ges.	23	39	62
	p	0,254			p	1,000		
CD3i⁺ TILs		<	>	Ges.		w	m	Ges.
	low	8	11	19	low	8	11	19
	high	20	23	43	high	15	28	43
	Ges.	28	34	62	Ges.	23	39	62
	p	0,788			p	0,776		
CD3s⁺ TILs		<	>	Ges.		w	m	Ges.
	low	11	11	22	low	6	16	22
	high	17	23	40	high	17	23	40
	Ges.	28	34	62	Ges.	23	39	62
	p	0,604			p	0,281		
CD4i⁺ TILs		<	>	Ges.		w	m	Ges.
	low	7	7	14	low	4	10	14
	high	20	26	46	high	18	28	46
	Ges.	27	33	60	Ges.	22	38	60
	p	0,763			p	0,542		

Anhang

CD4s⁺ TILs		<	>	Ges.		w	m	Ges.
	low	9	5	14	low	4	10	14
	high	18	28	46	high	18	28	46
	Ges.	27	33	60	Ges.	22	38	60
	p	0,129			p	0,542		
CD8i⁺ TILs		<	>	Ges.		w	m	Ges.
	low	14	11	25	low	8	17	25
	high	14	23	37	high	15	22	37
	Ges.	28	34	62	Ges.	23	39	62
	p	0,198			p	0,596		
CD8s⁺ TILs		<	>	Ges.		w	m	Ges.
	low	11	12	23	low	5	18	23
	high	17	22	39	high	18	21	39
	Ges.	28	34	62	Ges.	23	39	62
	p	0,796			p	0,063		
FOXP3i⁺ TILs		<	>	Ges.		w	m	Ges.
	low	6	10	16	low	5	11	16
	high	22	24	46	high	18	28	46
	Ges.	28	34	62	Ges.	23	39	62
	p	0,566			p	0,765		
FOXP3s⁺ TILs		<	>	Ges.		w	m	Ges.
	low	8	5	13	low	4	9	13
	high	20	29	49	high	19	30	49
	Ges.	28	34	62	Ges.	23	39	62
	p	0,220			p	0,751		
IL-17Ai⁺ TILs		<	>	Ges.		w	m	Ges.
	low	10	15	25	low	7	18	25
	high	14	13	27	high	10	17	27
	Ges.	24	28	52	Ges.	17	35	52
	p	0,419			p	0,562		
IL-17As⁺ TILs		<	>	Ges.		w	m	Ges.
	low	6	15	21	low	8	13	21
	high	21	18	39	high	14	25	39
	Ges.	27	33	60	Ges.	22	38	60
	p	0,102			p	1,000		

Anhang 9: Immunologische Parameter in Korrelation mit Alter und Geschlecht (IF)

	pT						pN				
HLA Klasse I		1	2	3	4	Ges.		0	1	2a/b	Ges.
	low	3	5	1	8	17	low	7	3	7	17
	high	19	13	3	10	45	high	23	7	15	45
	Ges.	22	18	4	18	62	Ges.	30	10	22	62
	p	0,169						p	0,742		
CD3i⁺ TILs		1	2	3	4	Ges.		0	1	2a/b	Ges.

Anhang

	low	6	5	1	7	19	low	9	3	7	19	
	high	16	13	3	11	43	high	21	7	15	43	
	Ges.	22	18	4	18	62	Ges.	30	10	22	62	
	p	0,903						p	0,989			
CD3s⁺ TILs		1	2	3	4	Ges.		0	1	2a/b	Ges.	
	low	4	7	1	10	22	low	8	2	12	22	
	high	18	11	3	8	40	high	22	8	10	40	
	Ges.	22	18	4	18	62	Ges.	30	10	22	62	
	p	0,089						p	0,072			
CD4i⁺ TILs		1	2	3	4	Ges.		0	1	2a/b	Ges.	
	low	2	5	1	6	14	low	3	3	8	14	
	high	20	13	3	10	46	high	26	7	13	46	
	Ges.	22	18	4	16	60	Ges.	29	10	21	60	
	p	0,180						p	0,027			
CD4s⁺ TILs		1	2	3	4	Ges.		0	1	2a/b	Ges.	
	low	4	3	2	6	14	low	5	4	5	14	
	high	18	15	3	10	46	high	24	6	16	46	
	Ges.	22	18	4	16	60	Ges.	29	10	21	60	
	p	0,445						p	0,298			
CD8i⁺ TILs		1	2	3	4	Ges.		0	1	2a/b	Ges.	
	low	6	8	1	10	25	low	12	3	10	25	
	high	16	10	3	8	37	high	18	7	12	37	
	Ges.	22	18	4	18	62	Ges.	30	10	22	62	
	p	0,275						p	0,692			
CD8s⁺ TILs		1	2	3	4	Ges.		0	1	2a/b	Ges.	
	low	5	7	1	10	23	low	10	2	11	23	
	high	17	11	3	8	39	high	20	8	11	39	
	Ges.	22	18	4	18	62	Ges.	30	10	22	62	
	p	0,182						p	0,260			
FOXP3i⁺ TILs		1	2	3	4	Ges.		0	1	2a/b	Ges.	
	low	2	5	0	9	16	low	7	2	7	16	
	high	20	13	4	9	46	high	23	8	15	46	
	Ges.	22	18	4	18	62	Ges.	30	10	22	62	
	p	0,021						p	0,732			
FOXP3s⁺ TILs		1	2	3	4	Ges.		0	1	2a/b	Ges.	
	low	2	6	1	4	13	low	4	3	6	13	
	high	20	12	3	14	49	high	26	7	16	49	
	Ges.	22	18	4	18	52	Ges.	30	10	11	62	
	p	0,243						p	0,397			
IL-17Ai⁺ TILs		1	2	3	4	Ges.		0	1	2a/b	Ges.	
	low	7	6	1	7	21	low	10	4	7	21	
	high	15	12	3	9	39	high	19	6	14	39	
	Ges.	22	18	4	16	60	Ges.	20	10	21	60	
	p	0,873						p	1,000			

Anhang

IL-17As ⁺ TILs		1	2	3	4	Ges.		0	1	2a/b	Ges.
	low	9	6	2	9	26	low	10	4	12	26
	high	12	12	2	6	32	high	18	5	9	32
	Ges.	21	18	4	15	58	Ges.	28	9	21	58
	p	0,475					p	0,313			

Anhang 10: Immunologische Parameter in Korrelation mit dem pT- und pN-Status (IF)

	UICC						Grading					
		I	II	III	IV	Ges.		G1	G2	G3	Ges.	
HLA Klasse I	low	2	2	1	12	17	low	2	8	7	17	
	high	13	5	7	20	45	high	4	32	9	45	
	Ges.	15	7	8	32	62	Ges.	6	40	16	62	
	p	0,300					p	0,187				
CD3i ⁺ TILs	low	3	2	2	12	19	low	0	12	7	19	
	high	12	5	6	20	43	high	6	28	9	43	
	Ges.	15	7	8	32	62	Ges.	6	40	16	62	
	p	0,699					p	0,139				
CD3s ⁺ TILs	low	2	2	2	16	22	low	1	14	7	22	
	high	13	5	6	16	40	high	5	26	9	40	
	Ges.	15	7	8	32	62	Ges.	6	40	16	62	
	p	0,079					p	0,494				
CD4i ⁺ TILs	low	0	1	2	11	14	low	0	12	2	14	
	high	15	6	6	19	46	high	6	28	12	46	
	Ges.	15	7	8	30	60	Ges.	6	40	14	60	
	p	0,005					p	0,177				
CD4s ⁺ TILs	low	2	1	2	9	14	low	0	10	4	14	
	high	13	6	6	21	46	high	6	30	10	46	
	Ges.	15	7	8	30	60	Ges.	6	40	14	60	
	p	0,645					p	0,349				
CD8i ⁺ TILs	low	3	5	2	15	25	low	0	16	9	25	
	high	12	2	6	17	37	high	6	24	7	37	
	Ges.	15	7	8	32	62	Ges.	6	40	16	62	
	p	0,091					p	0,041				

Anhang

CD8s ⁺ TILs		I	II	III	IV	Ges.		G1	G2	G3	Ges.
	low	3	3	1	16	23	low	1	17	5	23
high	12	4	7	16	39	high	5	23	11	39	
Ges.	15	7	8	32	62	Ges.	6	40	16	62	
p	0,098					p	0,405				
FOXP3i ⁺ TILs		I	II	III	IV	Ges.		G1	G2	G3	Ges.
	low	1	2	1	12	16	low	1	11	4	16
high	14	5	7	20	46	high	5	29	12	46	
Ges.	15	7	8	32	62	Ges.	6	40	16	62	
p	0,105					p	0,915				
FOXP3s ⁺ TILs		I	II	III	IV	Ges.		G1	G2	G3	Ges.
	low	2	1	2	8	13	low	0	7	6	13
high	13	6	6	24	49	high	6	33	10	49	
Ges.	15	7	8	32	62	Ges.	6	40	16	62	
p	0,811					p	0,111				
IL-17Ai ⁺ TILs		I	II	III	IV	Ges.		G1	G2	G3	Ges.
	low	6	1	2	12	21	low	1	15	5	21
high	9	6	6	18	39	high	5	25	9	39	
Ges.	15	7	8	30	60	Ges.	6	40	14	60	
p	0,628					p	0,607				
IL-17As ⁺ TILs		I	II	III	IV	Ges.		G1	G2	G3	Ges.
	low	6	1	3	16	26	low	2	17	7	26
high	9	6	3	13	32	high	4	21	7	32	
Ges.	15	7	7	29	58	Ges.	6	38	14	58	
p	0,273					p	0,790				

Anhang 11: Immunologische Parameter in Korrelation mit UICC-Stadien und Grading (IF)

	Pn1			L1				
	ja	nein	Ges.	ja	nein	Ges.		
HLA Klasse I	low	8	9	17	low	3	14	17
	high	12	33	45	high	7	38	45
	Ges.	20	42	62	Ges.	10	52	62
	p	0,125			p	0,842		
CD3i ⁺ TILs	ja	nein	Ges.	ja	nein	Ges.		
	low	9	10	19	low	4	15	19
	high	11	32	43	high	6	37	43
	Ges.	20	42	62	Ges.	10	52	62
p	0,091			p	0,484			

Anhang

CD3s+ TILs		ja	nein	Ges.		ja	nein	Ges.
	low	8	14	22	low	6	16	22
	high	12	28	40	high	4	36	40
	Ges.	20	42	62	Ges.	10	52	62
	p	0,608			p	0,077		
CD4i+ TILs		ja	nein	Ges.		ja	nein	Ges.
	low	4	10	14	low	3	11	14
	high	14	32	46	high	7	39	46
	Ges.	18	42	60	Ges.	10	50	60
	p	0,894			p	0,585		
CD4s+ TILs		ja	nein	Ges.		ja	nein	Ges.
	low	3	11	14	low	3	11	14
	high	15	31	46	high	7	39	46
	Ges.	18	42	60	Ges.	10	50	60
	p	0,424			p	0,585		
CD8i+ TILs		ja	nein	Ges.		ja	nein	Ges.
	low	12	13	25	low	5	20	25
	high	8	29	37	high	5	32	37
	Ges.	20	42	62	Ges.	19	52	62
	p	0,022			p	0,558		
CD8s+ TILs		ja	nein	Ges.		ja	nein	Ges.
	low	6	17	23	low	6	17	23
	high	14	25	39	high	4	35	39
	Ges.	20	42	62	Ges.	10	52	62
	p	0,464			p	0,123		
FOXP3i+ TILs		ja	nein	Ges.		ja	nein	Ges.
	low	6	10	16	low	2	14	16
	high	14	32	46	high	8	38	46
	Ges.	20	42	62	Ges.	10	52	62
	p	0,640			p	0,624		
FOXP3s+ TILs		ja	nein	Ges.		ja	nein	Ges.
	low	7	6	13	low	5	8	13
	high	13	36	49	high	5	44	49
	Ges.	20	42	62	Ges.	10	52	62
	p	0,068			p	0,015		
IL-17Ai+ TILs		ja	nein	Ges.		ja	nein	Ges.
	low	7	14	21	low	5	16	21
	high	11	28	39	high	5	34	39
	Ges.	18	42	60	Ges.	10	50	60
	p	0,679			p	0,276		
IL-17As+ TILs		ja	nein	Ges.		ja	nein	Ges.
	low	7	19	26	low	7	19	26
	high	10	22	32	high	3	29	32
	Ges.	17	41	58	Ges.	10	48	58

Anhang

	p	0,719		p	0,078
--	---	-------	--	---	-------

Anhang 12: Immunologische Parameter in Korrelation mit Pn1 und L1 (IF)

	Alter				Geschlecht			
HLA Klasse I		<	>	Ges.		w	m	Ges.
	low	6	11	17	low	4	13	17
	high	22	18	40	high	14	26	40
	Ges.	28	29	57	Ges.	18	39	57
	p	0,248			p	0,537		
CD3i⁺ TILs		<	>	Ges.		w	m	Ges.
	low	9	11	20	low	5	15	20
	high	19	18	37	high	13	24	37
	Ges.	28	29	57	Ges.	18	39	57
	p	0,783			p	0,555		
CD3s⁺ TILs		<	>	Ges.		w	m	Ges.
	low	9	6	15	low	3	12	15
	high	19	23	42	high	15	27	42
	Ges.	28	29	57	Ges.	18	39	57
	p	0,379			p	0,342		
CD4i⁺ TILs		<	>	Ges.		w	m	Ges.
	low	5	9	14	low	4	10	14
	high	19	19	38	high	13	25	38
	Ges.	24	28	52	Ges.	17	35	52
	p	0,532			p	0,753		
CD4s⁺ TILs		<	>	Ges.		w	m	Ges.
	low	7	6	13	low	3	10	13
	high	16	22	38	high	14	24	38
	Ges.	23	28	51	Ges.	17	34	51
	p	0,529			p	0,502		
CD8i⁺ TILs		<	>	Ges.		w	m	Ges.
	low	9	8	17	low	3	14	17
	high	19	21	40	high	15	25	40
	Ges.	28	29	57	Ges.	18	39	57
	p	0,777			p	0,214		
CD8s⁺ TILs		<	>	Ges.		w	m	Ges.
	low	9	8	17	low	3	14	17
	high	19	21	40	high	15	25	40
	Ges.	28	29	57	Ges.	18	39	57
	p	0,777			p	0,214		
FOXP3i⁺ TILs		<	>	Ges.		w	m	Ges.
	low	4	6	10	low	2	8	10
	high	24	23	47	high	16	31	47
	Ges.	28	29	57	Ges.	18	39	57
	p	0,730			p	0,478		

Anhang

FOXP3s⁺ TILs		<	>	Ges.		w	m	Ges.
	low	11	6	17	low	2	15	17
	high	17	23	40	high	16	24	40
	Ges.	28	29	57	Ges.	18	39	57
	p	0,155			p	0,060		
IL-17Ai⁺ TILs		<	>	Ges.		w	m	Ges.
	low	10	15	25	low	7	18	25
	high	14	13	27	high	10	17	27
	Ges.	24	28	52	Ges.	17	35	52
	p	0,419			p	0,562		
IL-17As⁺ TILs		<	>	Ges.		w	m	Ges.
	low	13	14	27	low	8	19	27
	high	11	14	25	high	9	16	25
	Ges.	24	28	52	Ges.	17	35	52
	p	0,788			p	0,769		

Anhang 13: Immunologische Parameter in Korrelation mit Alter und Geschlecht (TZe)

	pT						pN				
HLA Klasse I		1	2	3	4	Ges.		0	1	2a/b	Ges.
	low	5	6	0	6	17	low	10	1	6	17
	high	16	9	3	12	40	high	19	8	13	40
	Ges.	21	15	3	18	57	Ges.	29	9	19	57
	p	0,593					p	0,497			
CD3i⁺ TILs		1	2	3	4	Ges.		0	1	2a/b	Ges.
	low	4	5	1	10	20	low	9	4	7	20
	high	17	10	2	8	37	high	20	5	12	37
	Ges.	21	15	3	18	57	Ges.	29	9	19	57
	p	0,111					p	0,808			
CD3s⁺ TILs		1	2	3	4	Ges.		0	1	2a/b	Ges.
	low	2	6	1	6	15	low	6	2	7	15
	high	19	9	2	12	42	high	23	7	12	42
	Ges.	21	15	3	18	57	Ges.	29	9	19	57
	p	0,106					p	0,510			
CD4i⁺ TILs		1	2	3	4	Ges.		0	1	2a/b	Ges.
	low	5	3	0	6	14	low	6	1	7	14
	high	15	12	2	9	38	high	20	7	11	38
	Ges.	20	15	2	15	52	Ges.	26	8	18	52
	p	0,568					p	0,363			
CD4s⁺ TILs		1	2	3	4	Ges.		0	1	2a/b	Ges.
	low	3	6	0	4	13	low	5	1	7	13
	high	17	9	2	10	38	high	21	7	10	38
	Ges.	20	15	2	14	51	Ges.	26	8	17	51
	p	0,309					p	0,217			
CD8i⁺ TILs		1	2	3	4	Ges.		0	1	2a/b	Ges.

Anhang

	low	3	4	1	9	17	low	11	2	4	17	
	high	18	11	2	9	40	high	18	7	15	40	
	Ges.	21	15	3	18	57	Ges.	29	9	19	57	
	p	0,089						p	0,427			
CD8s⁺ TILs		1	2	3	4	Ges.		0	1	2a/b	Ges.	
	low	3	4	1	9	17	low	7	2	8	17	
	high	18	11	2	9	40	high	22	7	11	40	
	Ges.	21	15	3	18	57	Ges.	29	9	19	57	
	p	0,089						p	0,360			
FOXP3i⁺ TILs		1	2	3	4	Ges.		0	1	2a/b	Ges.	
	low	1	1	0	8	10	low	4	0	6	10	
	high	20	14	3	10	47	high	25	9	13	47	
	Ges.	21	15	3	18	57	Ges.	29	9	19	57	
	p	0,004						p	0,101			
FOXP3s⁺ TILs		1	2	3	4	Ges.		0	1	2a/b	Ges.	
	low	2	8	0	7	17	low	6	2	9	17	
	high	19	7	3	11	40	high	23	7	10	40	
	Ges.	21	15	3	18	57	Ges.	29	9	19	57	
	p	0,018						p	0,133			
IL-17Ai⁺ TILs		1	2	3	4	Ges.		0	1	2a/b	Ges.	
	low	10	7	1	7	25	low	14	3	8	25	
	high	10	8	1	8	27	high	12	5	10	27	
	Ges.	20	15	2	15	52	Ges.	26	8	18	52	
	p	0,996						p	0,805			
IL-17As⁺ TILs		1	2	3	4	Ges.		0	1	2a/b	Ges.	
	low	12	8	1	6	27	low	14	4	10	27	
	high	8	7	1	9	25	high	13	4	8	25	
	Ges.	20	15	2	15	52	Ges.	26	8	18	52	
	p	0,757						p	0,931			

Anhang 14: Immunologische Parameter in Korrelation mit dem pT- und pN-Stadium (TZe)

	UICC						Grading				
HLA Klasse I		I	II	III	IV	Ges.		G1	G2	G3	Ges.
	low	4	3	0	10	17	low	2	9	6	17
	high	12	3	6	19	40	high	5	25	10	40
	Ges.	16	6	6	29	57	Ges.	7	34	16	57
	p	0,284						p	0,727		
CD3i⁺ TILs		I	II	III	IV	Ges.		G1	G2	G3	Ges.
	low	2	1	2	15	20	low	0	13	7	20
	high	14	5	4	14	37	high	7	21	9	37
	Ges.	16	6	6	29	57	Ges.	7	34	16	57
	p	0,038						p	0,090		

Anhang

		I	II	III	IV	Ges.		G1	G2	G3	Ges.	
CD3s⁺ TILs	low	1	2	2	10	15	low	1	9	5	15	
	high	15	4	4	19	42	high	6	25	11	42	
	Ges.	16	6	6	29	57	Ges.	7	34	16	57	
	p	0,067					p	0,646				
CD4i⁺ TILs	low	4	1	1	8	14	low	1	12	1	14	
	high	11	5	4	18	38	high	6	20	12	38	
	Ges.	15	6	5	26	52	Ges.	7	32	13	52	
	p	0,962					p	0,089				
CD4s⁺ TILs	low	3	1	0	9	13	low	1	8	4	13	
	high	12	5	5	16	38	high	6	23	9	38	
	Ges.	15	6	5	25	51	Ges.	7	31	13	51	
	p	0,414					p	0,721				
CD8i⁺ TILs	low	3	2	1	11	17	low	0	11	6	17	
	high	13	4	5	18	40	high	7	23	10	40	
	Ges.	16	6	6	29	57	Ges.	7	34	16	57	
	p	0,556					p	0,171				
CD8s⁺ TILs	low	2	1	1	13	17	low	0	13	4	17	
	high	14	5	5	16	40	high	7	21	12	40	
	Ges.	16	6	6	29	57	Ges.	7	34	16	57	
	p	0,102					p	0,116				
FOXP3i⁺ TILs	low	1	0	0	9	10	low	0	7	3	10	
	high	15	6	6	20	47	high	7	27	13	47	
	Ges.	16	6	6	29	57	Ges.	7	34	16	57	
	p	0,095					p	0,422				
FOXP3s⁺ TILs	low	2	1	1	13	17	low	1	9	7	17	
	high	14	5	5	16	40	high	6	25	9	40	
	Ges.	16	6	6	29	57	Ges.	7	34	16	57	
	p	0,102					p	0,290				

Anhang

IL-17Ai ⁺ TILs		I	II	III	IV	Ges.		G1	G2	G3	Ges.
	low	8	3	2	12	25	low	2	17	6	25
	high	7	3	3	14	27	high	5	15	7	27
	Ges.	15	6	5	26	52	Ges.	7	32	13	52
	p	0,972					p				

IL-17As ⁺ TILs		I	II	III	IV	Ges.		G1	G2	G3	Ges.
	low	9	1	2	15	27	low	2	19	6	27
	high	6	5	3	11	25	high	5	13	7	25
	Ges.	15	6	5	26	52	Ges.	7	32	13	52
	p	0,284					p				

Anhang 15: Immunologische Parameter in Korrelation mit UICC-Stadien und Grading (TZe)

	Pn1				L1			
HLA Klasse I		ja	nein	Ges.		ja	nein	Ges.
low	8	9	17	low	5	12	17	
high	11	29	40	high	5	35	40	
Ges.	19	38	57	Ges.	10	47	57	
p	0,152			p	0,125			
CD3i ⁺ TILs		ja	nein	Ges.		ja	nein	Ges.
low	8	12	20	low	6	14	20	
high	11	26	37	high	4	33	37	
Ges.	19	38	57	Ges.	10	47	57	
p	0,520			p	0,086			
CD3s ⁺ TILs		ja	nein	Ges.		ja	nein	Ges.
low	5	10	15	low	4	11	15	
high	14	28	42	high	6	36	42	
Ges.	19	38	57	Ges.	10	47	57	
p	0,908			p	0,318			
CD4i ⁺ TILs		ja	nein	Ges.		ja	nein	Ges.
low	4	10	14	low	1	13	14	
high	13	25	38	high	9	29	38	
Ges.	17	35	52	Ges.	10	42	52	
p	0,702			p	0,179			
CD4s ⁺ TILs		ja	nein	Ges.		ja	nein	Ges.
low	5	8	13	low	3	10	13	
high	12	26	38	high	7	31	38	
Ges.	17	34	51	Ges.	10	41	51	
p	0,650			p	0,715			
CD8i ⁺ TILs		ja	nein	Ges.		ja	nein	Ges.
low	6	11	17	low	5	12	17	
high	13	27	40	high	5	35	40	

Anhang

	Ges.	19	38	57	Ges.	10	47	57
	p	0,838			p	0,125		
CD8s+ TILs		ja	nein	Ges.		ja	nein	Ges.
	low	6	11	17	low	5	12	17
	high	13	27	40	high	5	35	40
	Ges.	19	38	57	Ges.	10	47	57
	p	0,838			p	0,125		
FOXP3i+ TILs		ja	nein	Ges.		ja	nein	Ges.
	low	5	5	10	low	0	10	10
	high	14	33	47	high	10	37	47
	Ges.	19	38	57	Ges.	10	47	57
	p	0,218			p	0,108		
FOXP3s+ TILs		ja	nein	Ges.		ja	nein	Ges.
	low	9	8	17	low	7	10	17
	high	10	30	40	high	3	37	40
	Ges.	19	38	57	Ges.	10	47	57
	p	0,041			p	0,002		
IL-17Ai+ TILs		ja	nein	Ges.		ja	nein	Ges.
	low	9	16	25	low	6	19	25
	high	8	19	27	high	4	23	27
	Ges.	17	35	52	Ges.	10	42	52
	p	0,625			p	0,401		
IL-17As+ TILs		ja	nein	Ges.		ja	nein	Ges.
	low	10	17	27	low	5	22	27
	high	7	18	25	high	5	20	25
	Ges.	17	35	52	Ges.	10	42	52
	p	0,488			p	0,892		

Anhang 16: Immunologische Parameter in Korrelation mit Pn1 und L1 (TZe)

8.4 Anhang: Verhältnisse der TIL-Subgruppen in Korrelation mit klinik- und histopathologischen Daten

	Alter (<: unterhalb Medians, >: Median und darüber)				Geschlecht (w: weiblich, m: männlich)			
CD8i:CD3i		<	>	Ges.		w	m	Ges.
	low	13	7	20	low	7	13	20
	high	15	26	41	high	15	26	41
	Ges.	28	33	61	Ges.	22	39	61
	p	0,055			p	1,000		
CD8s:CD3s		<	>	Ges.		w	m	Ges.
	low	11	8	19	low	5	14	19
	high	17	26	43	high	18	25	43
	Ges.	28	34	62	Ges.	23	39	62
	p	0,268			p	0,271		

Anhang

CD8i:CD4i		<	>	Ges.		w	m	Ges.
	low	10	11	21	low	4	17	21
	high	17	21	38	high	17	21	38
	Ges.	27	32	59	Ges.	21	38	59
	p	1,000			p	0,087		
CD8s:CD4s		<	>	Ges.		w	m	Ges.
	low	10	12	22	low	6	16	22
	high	17	20	37	high	15	22	37
	Ges.	27	32	59	Ges.	21	38	59
	p	1,000			p	0,402		
CD8i:FOXP3i		<	>	Ges.		w	m	Ges.
	low	13	8	21	low	6	15	21
	high	13	24	37	high	16	21	37
	Ges.	26	32	58	Ges.	22	36	58
	p	0,060			p	0,399		
CD8s:FOXP3s		<	>	Ges.		w	m	Ges.
	low	10	10	20	low	3	17	20
	high	18	24	42	high	20	22	42
	Ges.	28	34	62	Ges.	23	39	62
	p	0,785			p	0,023		
CD8i:IL-17Ai		<	>	Ges.		w	m	Ges.
	low	11	7	18	low	5	13	18
	high	15	23	38	high	16	22	38
	Ges.	26	30	56	Ges.	21	35	56
	p	0,159			p	0,382		
CD8s:IL-17As		<	>	Ges.		w	m	Ges.
	low	10	9	19	low	2	17	19
	high	16	23	39	high	18	21	39
	Ges.	26	32	58	Ges.	20	38	58
	p	0,574			p	0,008		
FOXP3i:CD3i		<	>	Ges.		w	m	Ges.
	low	9	10	19	low	6	13	19
	high	19	23	42	high	16	26	42
	Ges.	28	33	61	Ges.	22	39	61
	p	1,000			p	0,775		
FOXP3s:CD3s		<	>	Ges.		w	m	Ges.
	low	12	8	20	low	9	11	20
	high	16	26	42	high	14	28	42
	Ges.	28	34	62	Ges.	23	39	62
	p	0,172			p	0,410		
FOXP3i:CD4i		<	>	Ges.		w	m	Ges.
	low	10	13	23	low	6	17	23
	high	17	19	36	high	15	21	36
	Ges.	27	32	59	Ges.	21	38	59

Anhang

	p	0,796			p	0,273		
FOXP3s:CD4s		<	>	Ges.		w	m	Ges.
	low	8	11	19	low	6	13	19
	high	19	21	40	high	15	25	40
	Ges.	27	32	59	Ges.	23	39	62
	p	0,784			p	0,775		
FOXP3i:IL-17Ai		<	>	Ges.		w	m	Ges.
	low	11	14	25	low	7	18	25
	high	15	16	31	high	14	17	31
	Ges.	26	30	56	Ges.	21	35	56
	p	0,793			p	0,268		
FOXP3s:IL-17As		<	>	Ges.		w	m	Ges.
	low	12	7	19	low	4	15	19
	high	14	25	39	high	16	23	39
	Ges.	26	32	58	Ges.	20	38	58
	p	0,090			p	0,155		
CD4i:CD3i		<	>	Ges.		w	m	Ges.
	low	9	10	19	low	9	10	19
	high	18	22	40	high	12	28	40
	Ges.	27	32	59	Ges.	21	38	59
	p	1,000			p	0,248		
CD4s:CD3s		<	>	Ges.		w	m	Ges.
	low	10	9	19	low	8	11	19
	high	17	24	41	high	14	27	41
	Ges.	27	33	60	Ges.	22	38	60
	p	0,578			p	0,577		
CD4i:IL-17Ai		<	>	Ges.		w	m	Ges.
	low	13	12	25	low	9	16	25
	high	13	18	31	high	12	19	31
	Ges.	26	30	56	Ges.	21	35	56
	p	0,591			p	1,000		
CD4s:IL-17As		<	>	Ges.		w	m	Ges.
	low	11	8	19	low	5	14	19
	high	15	24	39	high	15	24	39
	Ges.	26	32	58	Ges.	20	38	58
	p	0,260			p	0,397		

Anhang 17: Verhältnisse der TIL-Subgruppen in Korrelation mit Alter und Geschlecht (IF)

	pT					pN					
CD8i:CD3i		1	2	3	4	Ges.		0	1	2a/b	Ges.
	low	6	6	1	7	20	low	13	2	5	20
	high	16	12	3	10	41	high	17	8	16	41
	Ges.	22	18	4	17	61	Ges.	30	10	21	61
	p	0,835					p	0,289			

Anhang

CD8s:CD3s		1	2	3	4	Ges.		0	1	2a/b	Ges.
	low	6	4	1	8	19	low	10	2	7	19
	high	16	14	3	10	43	high	20	8	15	43
	Ges.	22	18	4	18	62	Ges.	30	10	22	62
	p	0,513					p	0,869			
CD8i:CD4i		1	2	3	4	Ges.		0	1	2a/b	Ges.
	low	5	8	1	7	21	low	10	4	7	21
	high	17	10	3	8	38	high	19	6	13	38
	Ges.	22	18	4	15	59	Ges.	29	10	20	59
	p	0,360					p	1,000			
CD8s:CD4s		1	2	3	4	Ges.		0	1	2a/b	Ges.
	low	6	6	1	9	22	low	13	0	9	22
	high	16	12	3	6	37	high	16	10	11	37
	Ges.	22	18	4	15	59	Ges.	29	10	20	59
	p	0,203					p	0,019			
CD8i:FOXP3i		1	2	3	4	Ges.		0	1	2a/b	Ges.
	low	8	7	1	5	21	low	12	4	5	21
	high	14	10	3	10	37	high	16	6	15	37
	Ges.	22	17	4	15	58	Ges.	28	10	20	58
	p	0,976					p	0,417			
CD8s:FOXP3s		1	2	3	4	Ges.		0	1	2a/b	Ges.
	low	4	5	1	10	20	low	9	1	10	20
	high	18	13	3	8	42	high	21	9	12	42
	Ges.	22	18	4	18	62	Ges.	30	10	22	62
	p	0,081					p	0,153			
CD8i:IL-17Ai		1	2	3	4	Ges.		0	1	2a/b	Ges.
	low	5	7	1	5	18	low	9	3	6	18
	high	16	11	3	8	38	high	18	6	14	38
	Ges.	21	18	4	13	56	Ges.	27	9	20	56
	p	0,760					p	1,000			
CD8s:IL-17As		1	2	3	4	Ges.		0	1	2a/b	Ges.
	low	5	7	1	6	19	low	12	1	6	19
	high	16	11	3	9	39	high	16	8	15	39
	Ges.	21	18	4	15	58	Ges.	28	9	21	58
	p	0,727					p	0,184			
FOXP3i:CD3i		1	2	3	4	Ges.		0	1	2a/b	Ges.
	low	2	7	3	7	19	low	8	3	8	19
	high	20	11	1	10	42	high	22	7	13	42
	Ges.	22	18	4	17	61	Ges.	30	10	21	61
	p	0,013					p	0,759			
FOXP3s:CD3s		1	2	3	4	Ges.		0	1	2a/b	Ges.
	low	6	9	2	3	20	low	9	5	6	20
	high	16	9	2	15	42	high	21	5	16	42
	Ges.	22	18	4	18	62	Ges.	30	10	22	62

Anhang

	p	0,134					p	0,412			
FOXP3i:CD4i		1	2	3	4	Ges.		0	1	2a/b	Ges.
	low	4	8	2	9	23	low	10	3	10	23
	high	18	10	2	6	36	high	19	7	10	36
	Ges.	22	18	4	15	59	Ges.	29	10	20	59
	p	0,047					p	0,518			
FOXP3s:CD4s		1	2	3	4	Ges.		0	1	2a/b	Ges.
	low	5	11	2	1	19	low	8	4	7	19
	high	17	7	2	14	40	high	21	6	13	40
	Ges.	22	18	4	15	59	Ges.	29	10	20	59
	p	0,003					p	0,808			
FOXP3i:IL-17Ai		1	2	3	4	Ges.		0	1	2a/b	Ges.
	low	4	8	3	10	25	low	9	4	12	25
	high	17	10	1	3	31	high	18	5	8	31
	Ges.	21	18	4	13	56	Ges.	27	9	20	56
	p	0,004					p	0,184			
FOXP3s:IL-17As		1	2	3	4	Ges.		0	1	2a/b	Ges.
	low	5	10	1	3	19	low	9	3	7	19
	high	16	8	3	12	39	high	19	6	14	39
	Ges.	21	18	4	15	58	Ges.	28	9	21	58
	p	0,113					p	1,000			
CD4i:CD3i		1	2	3	4	Ges.		0	1	2a/b	Ges.
	low	8	6	1	4	19	low	11	2	6	19
	high	14	12	3	11	40	high	18	8	14	40
	Ges.	22	18	4	15	59	Ges.	29	10	20	59
	p	0,949					p	0,569			
CD4s:CD3s		1	2	3	4	Ges.		0	1	2a/b	Ges.
	low	9	4	1	5	19	low	6	5	8	19
	high	13	14	3	11	41	high	23	5	13	41
	Ges.	22	18	4	16	60	Ges.	29	10	21	60
	p	0,703					p	0,154			
CD4i:IL-17Ai		1	2	3	4	Ges.		0	1	2a/b	Ges.
	low	8	8	3	6	25	low	9	4	12	25
	high	13	10	1	7	31	high	18	5	8	31
	Ges.	21	18	4	13	56	Ges.	27	9	20	56
	p	0,628					p	0,184			
CD4s:IL-17As		1	2	3	4	Ges.		0	1	2a/b	Ges.
	low	6	6	1	6	19	low	9	4	6	19
	high	15	12	3	9	39	high	19	5	15	39
	Ges.	21	18	4	15	58	Ges.	28	9	21	58
	p	0,886					p	0,698			

Anhang 18: Verhältnisse der TIL-Subgruppen in Korrelation mit pT- und pN-Status (IF)

Anhang

	UICC						Grading				
CD8i:CD3i		I	II	III	IV	Ges.		G1	G2	G3	Ges.
	low	5	5	1	9	20	low	0	15	5	20
	high	10	2	7	22	41	high	6	25	10	41
	Ges.	15	7	8	31	61	Ges.	6	40	15	61
	p	0,119					p	0,272			
CD8s:CD3s		I	II	III	IV	Ges.		G1	G2	G3	Ges.
	low	5	12	1	12	19	low	1	16	2	19
	high	10	6	7	20	43	high	5	24	14	43
	Ges.	15	7	8	32	62	Ges.	6	40	16	62
	p	0,488					p	0,082			
CD8i:CD4i		I	II	III	IV	Ges.		G1	G2	G3	Ges.
	low	3	4	3	11	21	low	0	15	6	21
	high	12	3	5	18	38	high	6	25	7	38
	Ges.	15	7	8	29	59	Ges.	6	40	13	59
	p	0,362					p	0,141			
CD8s:CD4s		I	II	III	IV	Ges.		G1	G2	G3	Ges.
	low	5	2	1	14	22	low	1	16	5	22
	high	10	5	7	15	37	high	5	24	8	37
	Ges.	15	7	8	29	59	Ges.	6	40	13	59
	p	0,287					p	0,641			
CD8i:FOXP3i		I	II	III	IV	Ges.		G1	G2	G3	Ges.
	low	5	4	3	9	21	low	0	14	7	21
	high	10	2	5	20	37	high	6	23	8	37
	Ges.	15	6	8	29	58	Ges.	6	37	15	58
	p	0,454					p	0,130			
CD8s:FOXP3s		I	II	III	IV	Ges.		G1	G2	G3	Ges.
	low	3	2	1	14	20	low	1	16	3	20
	high	12	5	7	18	42	high	5	24	13	42
	Ges.	15	7	8	32	62	Ges.	6	40	16	62
	p	0,273					p	0,306			
CD8i:IL-17Ai		I	II	III	IV	Ges.		G1	G2	G3	Ges.
	low	2	4	3	9	18	low	0	13	5	18
	high	12	3	5	18	38	high	6	24	8	38
	Ges.	14	7	8	27	56	Ges.	6	37	13	56
	p	0,239					p	0,275			
CD8s:IL-17As		I	II	III	IV	Ges.		G1	G2	G3	Ges.

Anhang

	low	5	3	1	10	19	low	1	14	4	19	
	high	10	4	6	19	39	high	5	24	10	39	
	Ges.	15	7	7	29	58	Ges.	6	38	14	58	
	p	0,738					p	0,760				
FOXP3i:CD3i		I	II	III	IV	Ges.		G1	G2	G3	Ges.	
	low	2	3	3	11	19	low	1	14	4	19	
	high	13	4	5	20	42	high	5	26	11	42	
	Ges.	15	7	8	31	61	Ges.	6	40	15	61	
	p	0,346					p	0,759				
FOXP3s:CD3s		I	II	III	IV	Ges.		G1	G2	G3	Ges.	
	low	5	2	4	9	20	low	2	12	6	20	
	high	10	5	4	23	42	high	4	28	10	42	
	Ges.	15	7	8	32	62	Ges.	6	40	16	62	
	p	0,706					p	0,914				
FOXP3i:CD4i		I	II	III	IV	Ges.		G1	G2	G3	Ges.	
	low	3	3	2	15	23	low	1	16	6	23	
	high	12	4	6	14	36	high	5	24	7	36	
	Ges.	15	7	8	29	59	Ges.	6	40	13	59	
	p	0,181					p	0,541				
FOXP3s:CD4s		I	II	III	IV	Ges.		G1	G2	G3	Ges.	
	low	4	3	4	8	19	low	2	13	4	19	
	high	11	4	4	21	40	high	4	27	9	40	
	Ges.	15	7	8	29	59	Ges.	6	40	13	59	
	p	0,567					p	1,000				
FOXP3i:IL-17Ai		<i>I</i>	<i>II</i>	<i>III</i>	<i>IV</i>	<i>Ges.</i>		G1	G2	G3	Ges.	
	low	1	4	4	16	25	low	1	20	4	25	
	high	13	3	4	11	31	high	5	17	9	31	
	Ges.	14	7	8	27	56	Ges.	6	37	13	56	
	p	0,007					p	0,148				
FOXP3s:IL-17As		I	II	III	IV	Ges.		G1	G2	G3	Ges.	
	low	4	3	3	9	19	low	1	13	5	19	
	high	11	4	4	20	39	high	5	25	9	39	
	Ges.	15	7	7	29	58	Ges.	6	38	14	58	
	p	0,838					p	0,828				
CD4i:CD3i		I	II	III	IV	Ges.		G1	G2	G3	Ges.	
	low	5	4	3	7	19	low	2	13	4	19	
	high	10	3	5	22	40	high	4	27	9	40	
	Ges.	15	7	8	29	59	Ges.	6	40	13	59	

Anhang

	p	0,377					p	1,000				
CD4s:CD3s		I	II	III	IV	Ges.		G1	G2	G3	Ges.	
	low	5	1	3	10	19	low	1	13	5	19	
	high	10	6	5	20	41	high	5	27	9	41	
	Ges.	15	7	8	30	60	Ges.	6	40	14	60	
	p	0,825					p	0,830				
CD4i:IL-17Ai		I	II	III	IV	Ges.		G1	G2	G3	Ges.	
	low	3	3	5	14	25	low	1	18	6	25	
	high	11	4	3	13	31	high	5	19	7	31	
	Ges.	14	7	8	27	56	Ges.	6	37	13	56	
	p	0,188					p	0,428				
CD4s:IL-17As		I	II	III	IV	Ges.		G1	G2	G3	Ges.	
	low	4	2	3	10	19	low	1	14	4	19	
	high	11	5	4	19	39	high	5	24	10	39	
	Ges.	15	7	7	29	58	Ges.	6	38	14	58	
	p	0,880					p	0,760				

Anhang 19: Verhältnisse der TIL-Subgruppen in Korrelation mit UICC-Stadien und Grading (IF)

	Pn1				L1				
CD8i:CD3i		ja	nein	Ges.		ja	nein	Ges.	
	low	7	13	20	low	4	16	20	
	high	12	29	41	high	6	35	41	
	Ges.	19	42	61	Ges.	10	51	61	
	p	0,770				p	0,711		
CD8s:CD3s		ja	nein	Ges.		ja	nein	Ges.	
	low	7	12	19	low	4	15	19	
	high	13	30	43	high	6	37	43	
	Ges.	20	42	62	Ges.	10	52	62	
	p	0,769				p	0,479		
CD8i:CD4i		ja	nein	Ges.		ja	nein	Ges.	
	low	10	11	21	low	6	15	21	
	high	7	31	38	high	4	34	38	
	Ges.	17	42	59	Ges.	10	49	59	
	p	0,034				p	0,144		
CD8s:CD4s		ja	nein	Ges.		ja	nein	Ges.	
	low	6	16	22	low	5	17	22	
	high	11	26	37	high	5	32	37	
	Ges.	17	42	59	Ges.	10	49	59	
	p	1,000				p	0,477		
CD8i:FOXP3i		ja	nein	Ges.		ja	nein	Ges.	

Anhang

	low	8	13	21	low	4	17	21
	high	11	26	37	high	5	32	37
	Ges.	19	39	58	Ges.	9	49	58
	p	0,569			p	0,710		
CD8s:FOXP3s		ja	nein	Ges.		ja	nein	Ges.
	low	5	15	20	low	3	17	20
	high	15	27	42	high	7	35	42
	Ges.	20	42	62	Ges.	10	52	62
	p	0,563			p	1,000		
CD8i:IL-17Ai		ja	nein	Ges.		ja	nein	Ges.
	low	7	11	18	low	2	16	18
	high	9	29	38	high	7	31	38
	Ges.	16	40	56	Ges.	9	47	56
	p	0,343			p	0,703		
CD8s:IL-17As		ja	nein	Ges.		ja	nein	Ges.
	low	4	15	19	low	3	16	19
	high	13	26	39	high	7	32	39
	Ges.	17	41	58	Ges.	10	48	58
	p	0,377			p	1,000		
FOXP3i:CD3i		ja	nein	Ges.		ja	nein	Ges.
	low	7	12	19	low	2	17	19
	high	12	30	42	high	34	8	42
	Ges.	19	42	61	Ges.	10	51	61
	p	0,560			p	0,485		
FOXP3s:CD3s		ja	nein	Ges.		ja	nein	Ges.
	low	8	12	20	low	4	16	20
	high	12	30	42	high	6	36	42
	Ges.	20	42	62	Ges.	10	52	62
	p	0,396			p	0,714		
FOXP3i:CD4i		ja	nein	Ges.		ja	nein	Ges.
	low	7	16	23	low	4	19	23
	high	10	26	36	high	6	30	36
	Ges.	17	42	59	Ges.	10	49	59
	p	1,000			p	1,000		
FOXP3s:CD4s		ja	nein	Ges.		ja	nein	Ges.
	low	8	11	19	low	4	15	19
	high	9	31	40	high	6	34	40
	Ges.	17	42	59	Ges.	10	59	59
	p	0,137			p	0,712		
FOXP3i:IL-17Ai		ja	nein	Ges.		ja	nein	Ges.
	low	7	18	25	low	3	22	25
	high	9	22	31	high	6	25	31
	Ges.	16	40	56	Ges.	9	47	56
	p	1,000			p	0,716		

Anhang

FOXP3s:IL-17As		ja	nein	Ges.		ja	nein	Ges.
	low	6	13	19	low	5	14	19
	high	11	28	39	high	5	34	39
	Ges.	17	41	58	Ges.	10	48	58
	p	1,000			p	0,270		
CD4i:CD3i		ja	nein	Ges.		ja	nein	Ges.
	low	6	13	19	low	2	17	19
	high	11	29	40	high	8	32	40
	Ges.	17	42	59	Ges.	10	49	59
	p	0,766			p	0,476		
CD4s:CD3s		ja	nein	Ges.		ja	nein	Ges.
	low	8	11	19	low	4	15	19
	high	10	31	41	high	6	35	41
	Ges.	18	42	60	Ges.	10	50	60
	p	0,227			p	0,711		
CD4i:IL-17Ai		ja	nein	Ges.		ja	nein	Ges.
	low	7	18	25	low	1	24	25
	high	9	22	31	high	8	23	31
	Ges.	16	40	56	Ges.	9	47	56
	p	1,000			p	0,033		
CD4s:IL-17As		ja	nein	Ges.		ja	nein	Ges.
	low	2	17	19	low	2	17	19
	high	15	24	39	high	8	31	39
	Ges.	17	41	58	Ges.	10	48	58
	p	0,034			p	0,472		

Anhang 20: Verhältnisse der TIL-Subgruppen in Korrelation mit Pn1 und L1 (IF)

	Alter (<: unterhalb Medians, >: Median und darüber)			Geschlecht (w: weiblich, m: männlich)				
CD8i:CD3i		<	>	Ges.		w	m	Ges.
	low	10	8	18	low	5	13	18
	high	17	20	37	high	13	24	37
	Ges.	27	28	55	Ges.	18	37	55
	p	0,573			p	0,761		
CD8s:CD3s		<	>	Ges.		w	m	Ges.
	low	7	10	17	low	3	14	17
	high	21	19	40	high	15	25	40
	Ges.	28	29	57	Ges.	18	39	57
	p	0,565			p	0,214		
CD8i:CD4i		<	>	Ges.		w	m	Ges.
	low	7	10	17	low	3	14	17
	high	17	18	35	high	15	20	35
	Ges.	24	28	52	Ges.	18	34	52
	p	0,769			p	0,120		

Anhang

CD8s:CD4s		<	>	Ges.		w	m	Ges.
	low	8	9	17	low	4	13	17
	high	15	20	35	high	14	21	35
	Ges.	23	29	52	Ges.	18	34	52
	p	1,000			p	0,354		
CD8i:FOXP3i		<	>	Ges.		w	m	Ges.
	low	13	5	18	low	3	15	18
	high	11	18	29	high	13	16	29
	Ges.	24	23	47	Ges.	16	31	47
	p	0,036			p	0,062		
CD8s:FOXP3s		<	>	Ges.		w	m	Ges.
	low	11	9	20	low	3	17	20
	high	17	20	37	high	15	22	37
	Ges.	28	29	57	Ges.	18	39	57
	p	0,585			p	0,073		
CD8i:IL-17Ai		<	>	Ges.		w	m	Ges.
	low	6	9	15	low	4	11	15
	high	14	18	32	high	14	18	32
	Ges.	20	27	47	Ges.	18	29	47
	p	1,000			p	0,343		
CD8s:IL-17As		<	>	Ges.		w	m	Ges.
	low	11	10	21	low	3	18	21
	high	12	19	31	high	15	16	31
	Ges.	23	29	52	Ges.	18	34	52
	p	0,400			p	0,017		
FOXP3i:CD3i		<	>	Ges.		w	m	Ges.
	low	5	13	18	low	4	14	18
	high	22	16	38	high	14	24	38
	Ges.	27	29	56	Ges.	18	38	56
	p	0,047			p	0,364		
FOXP3s:CD3s		<	>	Ges.		w	m	Ges.
	low	10	11	21	low	7	14	21
	high	18	18	36	high	11	25	36
	Ges.	28	29	57	Ges.	18	39	57
	p	1,000			p	1,000		
FOXP3i:CD4i		<	>	Ges.		w	m	Ges.
	low	7	10	17	low	4	13	17
	high	18	18	36	high	14	22	36
	Ges.	25	28	52	Ges.	18	35	53
	p	0,572			p	0,358		
FOXP3s:CD4s		<	>	Ges.		w	m	Ges.
	low	11	10	21	low	4	17	21
	high	12	18	30	high	13	17	30
	Ges.	23	28	51	Ges.	17	34	51

Anhang

	p	0,408			p	0,081		
FOXP3i:IL-17Ai		<	>	Ges.		w	m	Ges.
	low	6	10	16	low	3	13	16
	high	15	17	32	high	15	17	32
	Ges.	21	27	48	Ges.	18	30	48
	p	0,758			p	0,068		
FOXP3s:IL-17As		<	>	Ges.		w	m	Ges.
	low	10	7	17	low	3	14	17
	high	13	21	34	high	14	20	34
	Ges.	23	28	51	Ges.	17	34	51
	p	0,234			p	0,122		
CD4i:CD3i		<	>	Ges.		w	m	Ges.
	low	8	13	21	low	9	12	21
	high	15	14	29	high	8	21	29
	Ges.	23	27	50	Ges.	17	33	50
	p	0,398			p	0,366		
CD4s:CD3s		<	>	Ges.		w	m	Ges.
	low	6	12	18	low	6	12	18
	high	17	16	33	high	11	22	33
	Ges.	23	28	51	Ges.	17	34	51
	p	0,251			p	1,000		
CD4i:IL-17Ai		<	>	Ges.		w	m	Ges.
	low	8	7	15	low	5	10	15
	high	12	19	31	high	12	19	31
	Ges.	20	26	46	Ges.	17	29	46
	p	0,527			p	1,000		
CD4s:IL-17As		<	>	Ges.		w	m	Ges.
	low	10	8	18	low	4	14	18
	high	12	20	32	high	13	19	32
	Ges.	22	28	50	Ges.	17	33	50
	p	0,249			p	0,227		

Anhang 21: Verhältnisse der TIL-Subgruppen in Korrelation mit Alter und Geschlecht (TZe)

	pT						pN					
CD8i:CD3i		1	2	3	4	Ges.		0	1	2a/b	Ges.	
	low	5	5	1	7	18	low	11	2	5	18	
	high	15	10	2	10	37	high	16	7	14	37	
	Ges.	20	15	3	17	55	Ges.	27	9	19	55	
	p	0,785						p	0,467			
CD8s:CD3s		1	2	3	4	Ges.		0	1	2a/b	Ges.	
	low	5	2	1	9	17	low	9	2	6	17	
	high	16	13	2	9	40	high	20	7	13	40	
	Ges.	21	15	3	18	57	Ges.	29	9	19	57	

Anhang

	p	0,109					p	1,000			
CD8i:CD4i		1	2	3	4	Ges.		0	1	2a/b	Ges.
	low	3	5	1	8	17	low	10	2	5	17
	high	17	9	1	8	35	high	17	6	12	35
	Ges.	20	14	2	16	52	Ges.	27	8	17	52
	p	0,100					p	0,782			
CD8s:CD4s		1	2	3	4	Ges.		0	1	2a/b	Ges.
	low	5	2	0	10	17	low	10	1	6	17
	high	15	13	2	5	35	high	17	7	11	35
	Ges.	20	15	2	15	52	Ges.	27	8	17	52
	p	0,007					p	0,481			
CD8i:FOXP3i		1	2	3	4	Ges.		0	1	2a/b	Ges.
	low	7	7	0	4	18	low	13	3	2	18
	high	13	7	3	6	29	high	12	6	11	29
	Ges.	20	14	3	10	47	Ges.	25	9	13	47
	p	0,501					p	0,080			
CD8s:FOXP3s		1	2	3	4	Ges.		0	1	2a/b	Ges.
	low	5	5	1	9	20	low	11	2	7	20
	high	16	10	2	9	37	high	18	7	12	37
	Ges.	21	15	3	18	57	Ges.	29	9	19	57
	p	0,353					p	0,703			
CD8i:IL-17Ai		1	2	3	4	Ges.		0	1	2a/b	Ges.
	low	3	4	0	8	15	low	8	3	4	15
	high	15	9	2	6	32	high	15	5	12	32
	Ges.	18	13	2	14	47	Ges.	23	8	16	47
	p	0,085					p	0,767			
CD8s:IL-17As		1	2	3	4	Ges.		0	1	2a/b	Ges.
	low	4	6	0	11	21	low	12	1	8	21
	high	16	8	2	5	31	high	15	7	9	31
	Ges.	20	14	2	16	52	Ges.	27	8	17	52
	p	0,014					p	0,255			
FOXP3i:CD3i		1	2	3	4	Ges.		0	1	2a/b	Ges.
	low	5	4	0	9	18	low	9	0	9	18
	high	16	11	3	8	38	high	19	9	10	38
	Ges.	21	15	3	17	56	Ges.	28	9	19	56
	p	0,156					p	0,033			
FOXP3s:CD3s		1	2	3	4	Ges.		0	1	2a/b	Ges.
	low	7	7	1	6	21	low	10	3	8	21
	high	14	8	2	12	36	high	19	6	11	36
	Ges.	21	15	3	18	57	Ges.	29	9	19	57
	p	0,875					p	0,931			

Anhang

FOXP3i:CD4i		1	2	3	4	Ges.		0	1	2a/b	Ges.
	low	3	3	0	11	17	low	6	1	10	17
	high	17	11	2	6	36	high	21	7	8	36
	Ges.	20	14	2	17	53	Ges.	27	8	18	53
	p	0,005					p	0,034			
FOXP3s:CD4s		1	2	3	4	Ges.		0	1	2a/b	Ges.
	low	7	9	1	4	21	low	11	5	5	21
	high	13	6	1	10	30	high	15	3	12	30
	Ges.	20	15	2	14	51	Ges.	26	8	17	51
	p	0,296					p	0,315			
FOXP3i:IL-17Ai		1	2	3	4	Ges.		0	1	2a/b	Ges.
	low	4	4	0	8	16	low	8	1	7	16
	high	14	9	2	7	32	high	15	7	10	32
	Ges.	18	13	2	15	48	Ges.	23	8	17	48
	p	0,233					p	0,397			
FOXP3s:IL-17As		1	2	3	4	Ges.		0	1	2a/b	Ges.
	low	4	7	1	5	17	low	6	5	6	17
	high	16	7	1	10	34	high	20	3	11	34
	Ges.	20	14	2	15	51	Ges.	26	8	17	51
	p	0,282					p	0,130			
CD4i:CD3i		1	2	3	4	Ges.		0	1	2a/b	Ges.
	low	10	5	0	6	21	low	10	2	9	21
	high	9	10	2	8	29	high	14	6	9	29
	Ges.	19	15	2	14	50	Ges.	24	8	18	50
	p	0,513					p	0,550			
CD4s:CD3s		1	2	3	4	Ges.		0	1	2a/b	Ges.
	low	8	6	1	3	18	low	7	2	9	18
	high	12	9	1	11	33	high	19	6	8	33
	Ges.	20	15	2	14	51	Ges.	26	8	17	51
	p	0,581					p	0,198			
CD4i:IL-17Ai		1	2	3	4	Ges.		0	1	2a/b	Ges.
	low	5	5	0	5	15	low	5	3	7	15
	high	13	8	2	8	31	high	17	5	9	31
	Ges.	18	13	2	13	46	Ges.	22	8	16	46
	p	0,803					p	0,381			
CD4s:IL-17As		1	2	3	4	Ges.		0	1	2a/b	Ges.
	low	4	7	0	7	18	low	8	2	8	18
	high	16	7	2	7	32	high	18	6	8	32
	Ges.	20	14	2	14	50	Ges.	26	8	16	50
	p	0,122					p	0,439			

Anhang 22: Verhältnisse der TIL-Subgruppen in Korrelation mit pT- und pN-Stadium (TZe)

Anhang

	UICC						Grading				
CD8i:CD3i		I	II	III	IV	Ges.		G1	G2	G3	Ges.
	low	4	3	1	10	18	low	0	13	5	18
	high	11	3	5	18	37	high	7	19	11	37
	Ges.	15	6	6	28	55	Ges.	7	32	16	55
	p	0,626					p	0,144			
CD8s:CD3s		I	II	III	IV	Ges.		G1	G2	G3	Ges.
	low	4	1	1	11	17	low	1	13	3	17
	high	12	5	5	18	40	high	6	21	13	40
	Ges.	16	6	6	29	57	Ges.	7	34	16	57
	p	0,678					p	0,306			
CD8i:CD4i		I	II	III	IV	Ges.		G1	G2	G3	Ges.
	low	3	3	0	11	17	low	0	10	7	17
	high	12	3	5	15	35	high	7	21	7	35
	Ges.	15	6	5	26	52	Ges.	7	31	14	52
	p	0,151					p	0,059			
CD8s:CD4s		<i>I</i>	<i>II</i>	<i>III</i>	<i>IV</i>	<i>Ges.</i>		G1	G2	G3	Ges.
	<i>low</i>	<i>4</i>	<i>0</i>	<i>0</i>	<i>13</i>	<i>17</i>	low	1	11	5	17
	<i>high</i>	<i>11</i>	<i>6</i>	<i>5</i>	<i>13</i>	<i>35</i>	high	6	20	9	35
	<i>Ges.</i>	<i>15</i>	<i>6</i>	<i>5</i>	<i>26</i>	<i>52</i>	Ges.	7	31	14	52
	<i>p</i>	<i>0,026</i>					p	0,641			
CD8i:FOXP3i		I	II	III	IV	Ges.		G1	G2	G3	Ges.
	low	6	4	1	7	18	low	1	11	6	18
	high	9	2	5	13	29	high	6	16	7	29
	Ges.	15	6	6	29	47	Ges.	7	27	13	47
	p	0,410					p	0,416			
CD8s:FOXP3s		I	II	III	IV	Ges.		G1	G2	G3	Ges.
	low	4	2	1	13	20	low	2	13	5	20
	high	12	4	5	16	37	high	5	21	11	37
	Ges.	16	6	6	29	57	Ges.	7	34	16	57
	p	0,461					p	0,924			
CD8i:IL-17Ai		I	II	III	IV	Ges.		G1	G2	G3	Ges.
	low	2	2	1	10	15	low	1	10	4	15
	high	11	3	4	14	32	high	6	19	7	32
	Ges.	13	5	5	24	47	Ges.	7	29	11	47
	p	0,383					p	0,672			
CD8s:IL-17As		<i>I</i>	<i>II</i>	<i>III</i>	<i>IV</i>	<i>Ges.</i>		G1	G2	G3	Ges.

Anhang

	low	3	3	0	15	21	low	3	11	7	21	
	high	15	6	5	26	52	high	4	20	7	21	
	Ges.	15	6	5	26	52	Ges.	7	31	14	52	
	p	0,020						p	0,722			
FOXP3i:CD3i		I	II	III	IV	Ges.		G1	G2	G3	Ges.	
	low	5	2	0	11	18	low	4	9	5	18	
	high	11	4	6	17	38	high	3	24	11	38	
	Ges.	16	6	6	28	56	Ges.	7	33	16	56	
	p	0,371						p	0,324			
FOXP3s:CD3s		I	II	III	IV	Ges.		G1	G2	G3	Ges.	
	low	5	3	2	11	21	low	3	10	8	21	
	high	11	3	4	18	36	high	4	24	8	36	
	Ges.	16	6	6	29	57	Ges.	7	34	16	57	
	p	0,878						p	0,325			
FOXP3i:CD4i		I	II	III	IV	Ges.		G1	G2	G3	Ges.	
	low	2	1	0	14	17	low	2	9	6	17	
	high	13	5	5	13	36	high	5	22	9	36	
	Ges.	15	6	5	27	53	Ges.	7	31	15	53	
	p	0,015						p	0,838			
FOXP3s:CD4s		I	II	III	IV	Ges.		G1	G2	G3	Ges.	
	low	5	4	4	8	21	low	3	11	7	21	
	high	10	2	1	17	30	high	4	20	6	30	
	Ges.	15	6	5	25	51	Ges.	7	31	13	51	
	p	0,128						p	0,559			
FOXP3i:IL-17Ai		I	II	III	IV	Ges.		G1	G2	G3	Ges.	
	low	3	2	1	10	16	low	4	7	5	16	
	high	10	3	4	15	32	high	3	22	7	32	
	Ges.	13	5	5	25	48	Ges.	7	29	12	48	
	p	0,731						p	0,184			
FOXP3s:IL-17As		I	II	III	IV	Ges.		G1	G2	G3	Ges.	
	low	2	2	4	9	17	low	2	9	6	17	
	high	13	4	1	16	34	high	5	22	7	34	
	Ges.	15	6	5	25	51	Ges.	7	31	13	51	
	p	0,051						p	0,530			
CD4i:CD3i		I	II	III	IV	Ges.		G1	G2	G3	Ges.	
	low	7	2	2	10	21	low	3	15	3	21	
	high	7	4	3	15	29	high	4	15	10	29	
	Ges.	14	6	5	25	50	Ges.	7	30	13	50	

Anhang

	p	0,915					p	0,333				
CD4s:CD3s		I	II	III	IV	Ges.		G1	G2	G3	Ges.	
	low	6	1	1	10	18	low	3	11	4	18	
	high	9	5	4	15	33	high	4	20	9	33	
	Ges.	15	6	5	25	51	Ges.	7	31	13	51	
	p	0,714					p	0,918				
CD4i:IL-17Ai		I	II	III	IV	Ges.		G1	G2	G3	Ges.	
	low	3	1	2	9	15	low	2	11	2	15	
	high	10	4	3	14	31	high	5	18	8	31	
	Ges.	13	5	5	23	46	Ges.	7	29	10	46	
	p	0,723					p	0,733				
CD4s:IL-17As		I	II	III	IV	Ges.		G1	G2	G3	Ges.	
	low	3	3	1	11	18	low	3	9	6	18	
	high	12	3	4	13	32	high	4	21	7	32	
	Ges.	15	6	5	24	50	Ges.	7	30	13	50	
	p	0,296					p	0,588				

Anhang 23: Verhältnisse der TIL-Subgruppen in Korrelation mit UICC-Stadien und Grading (TZe)

	Pn1				L1				
CD8i:CD3i		ja	nein	Ges.		ja	nein	Ges.	
	low	9	9	18	low	5	13	18	
	high	10	27	37	high	5	32	37	
	Ges.	19	36	55	Ges.	10	45	55	
	p	0,132				p	0,26		
CD8s:CD3s		ja	nein	Ges.		ja	nein	Ges.	
	low	3	14	17	low	4	13	17	
	high	16	24	40	high	6	34	40	
	Ges.	19	38	57	Ges.	10	47	57	
	p	0,132				p	0,464		
CD8i:CD4i		ja	nein	Ges.		ja	nein	Ges.	
	low	7	10	17	low	5	12	17	
	high	10	25	35	high	5	30	35	
	Ges.	17	35	52	Ges.	10	42	52	
	p	0,529				p	0,264		
CD8s:CD4s		ja	nein	Ges.		ja	nein	Ges.	
	low	5	12	17	low	5	12	17	
	high	13	22	35	high	5	30	35	
	Ges.	18	34	52	Ges.	10	42	52	
	p	0,758				p	0,264		
CD8i:FOXP3i		ja	nein	Ges.		ja	nein	Ges.	

Anhang

	low	4	14	18	low	6	12	18
	high	10	19	29	high	4	25	29
	Ges.	14	33	47	Ges.	10	37	47
	p	0,516			p	0,150		
CD8s:FOXP3s		ja	nein	Ges.		ja	nein	Ges.
	low	6	14	20	low	1	19	20
	high	13	24	37	high	9	28	37
	Ges.	19	38	57	Ges.	10	47	57
	p	0,775			p	0,082		
CD8i:IL-17Ai		ja	nein	Ges.		ja	nein	Ges.
	low	5	10	15	low	4	11	15
	high	11	21	32	high	6	26	32
	Ges.	16	31	47	Ges.	10	37	47
	p	1,000			p	0,704		
CD8s:IL-17As		ja	nein	Ges.		ja	nein	Ges.
	low	7	14	21	low	7	14	21
	high	11	20	31	high	3	28	31
	Ges.	18	34	52	Ges.	10	42	52
	p	1,000			p	0,069		
FOXP3i:CD3i		ja	nein	Ges.		ja	nein	Ges.
	low	8	10	18	low	0	18	18
	high	11	27	38	high	10	28	38
	Ges.	19	37	56	Ges.	10	46	56
	p	0,365			p	0,022		
FOXP3s:CD3s		ja	nein	Ges.		ja	nein	Ges.
	low	9	12	21	low	7	14	21
	high	10	26	36	high	3	33	36
	Ges.	19	38	57	Ges.	10	47	57
	p	0,261			p	0,028		
FOXP3i:CD4i		ja	nein	Ges.		ja	nein	Ges.
	low	7	10	17	low	3	14	17
	high	11	25	36	high	7	29	36
	Ges.	18	35	53	Ges.	10	43	53
	p	0,539			p	1,000		
FOXP3s:CD4s		ja	nein	Ges.		ja	nein	Ges.
	low	7	14	21	low	9	12	21
	high	10	20	30	high	1	29	30
	Ges.	17	34	51	Ges.	10	41	51
	p	1,000			p	0,001		
FOXP3i:IL-17Ai		ja	nein	Ges.		ja	nein	Ges.
	low	6	10	16	low	2	14	16
	high	11	21	32	high	8	24	32
	Ges.	17	31	48	Ges.	10	38	48
	p	1,000			p	0,460		

Anhang

FOXP3s:IL-17As		ja	nein	Ges.		ja	nein	Ges.
	low	7	10	17	low	8	19	17
	high	10	24	34	high	2	32	34
	Ges.	17	34	51	Ges.	10	41	51
	p	0,531			p	0,001		
CD4i:CD3i		ja	nein	Ges.		ja	nein	Ges.
	low	7	14	21	low	2	19	21
	high	10	19	29	high	8	21	29
	Ges.	17	33	50	Ges.	10	40	50
	p	1,000			p	0,160		
CD4s:CD3s		ja	nein	Ges.		ja	nein	Ges.
	low	7	11	18	low	2	16	18
	high	10	23	33	high	8	25	33
	Ges.	17	34	51	Ges.	10	41	51
	p	0,551			p	0,462		
CD4i:IL-17Ai		ja	nein	Ges.		ja	nein	Ges.
	low	5	10	15	low	1	14	15
	high	10	21	31	high	9	22	31
	Ges.	15	31	46	Ges.	10	36	46
	p	1,000			p	0,132		
CD4s:IL-17As		ja	nein	Ges.		ja	nein	Ges.
	low	6	12	18	low	5	13	18
	high	11	21	32	high	5	27	32
	Ges.	17	33	50	Ges.	10	40	50
	p	1,000			p	0,463		

Anhang 24: Verhältnisse der TIL-Subgruppen in Korrelation mit Pn1 und L1 (TZe)

8.5 Anhang: Überlebenszeit in Korrelation mit immunologischen Parametern

TIL Subgruppe	Mittleres OS (SE)		Mittleres DSS (SE)		Mittleres DFS (SE)	
	Monate	p-Wert	Monate	p-Wert	Monate	p-Wert
CD3i ^{high}	56,9 (6,8)	0,770	68,9 (6,5)	0,787	65,3 (6,8)	0,680
CD3i ^{low}	44,3 (5,9)		46,6 (5,8)		44,3 (5,9)	
CD4i ^{high}	61,6 (6,5)	0,563	74,8 (5,9)	0,114	71,2 (6,3)	0,074
CD4i ^{low}	49,4 (9,6)		49,4 (9,6)		46,1 (9,4)	
CD8i ^{high}	56,5 (7,2)	0,637	65,2 (7,1)	0,518	64,7 (7,1)	0,949
CD8i ^{low}	44,9 (5,1)		50,5 (4,9)		46,8 (5,0)	
FOXP3i ^{high}	58,7 (6,7)	0,816	70,5 (6,2)	0,440	65,3 (6,6)	0,653
FOXP3i ^{low}	41,1 (6,4)		43,6 (6,4)		43,6 (6,4)	
IL-17Ai ^{high}	63,6 (6,7)	0,540	75,1 (6,3)	0,145	67,4 (7,0)	0,569
IL-17Ai ^{low}	41,7 (5,8)		42,8 (5,9)		44,7 (5,9)	

Anhang 25: Überlebensstatistik - Korrelation mit intraepithelialen immunologischen Parametern an der IF (SE = Standardfehler)

TIL Subgruppe	Mittleres OS (SE)		Mittleres DSS (SE)		Mittleres DFS (SE)	
	Monate	p-Wert	Monate	p-Wert	Monate	p-Wert
CD3s ^{high}	54,0 (6,1)	0,627	67,2 (5,4)	0,080	63,9 (5,9)	0,077
CD3s ^{low}	55,2 (8,9)		55,3 (8,9)		52,8 (8,8)	
CD4s ^{high}	58,2 (6,5)	0,579	70,7 (6,1)	0,775	67,4 (6,5)	0,594
CD4s ^{low}	59,6 (9,4)		59,6 (9,4)		55,6 (9,5)	
CD8s ^{high}	50,7 (6,0)	0,675	63,1 (5,8)	0,455	60,0 (6,0)	0,415
CD8s ^{low}	62,7 (8,9)		62,7 (8,9)		59,8 (8,9)	
FOXP3s^{high}	63,9 (6,2)	0,035	74,1 (5,7)	0,012	71,4 (6,0)	0,005
FOXP3s^{low}	28,9 (6,3)		30,1 (6,7)		28,9 (6,3)	
IL-17As ^{high}	44,9 (4,5)	0,542	53,2 (4,2)	0,102	50,4 (4,3)	0,226
IL-17As ^{low}	50,6 (7,4)		52,9 (7,4)		52,7 (7,4)	

Anhang 26: Überlebensstatistik - Korrelation mit Stromalen immunologischen Parametern an der IF

TIL Subgruppe	Mittleres OS (SE)		Mittleres DSS (SE)		Mittleres DFS (SE)	
	Monate	p-Wert	Monate	p-Wert	Monate	p-Wert
CD3i ^{high}	53,7 (6,4)	0,860	64,1 (5,8)	0,434	60,8 (6,2)	0,559
CD3i ^{low}	55,7 (9,0)		58,6 (9,0)		58,6 (9,0)	
CD4i ^{high}	54,7 (7,4)	0,842	67,2 (6,3)	0,487	62,7 (7,0)	0,659
CD4i ^{low}	57,0 (9,1)		57,0 (9,1)		57,0 (9,1)	
CD8i ^{high}	49,3 (6,0)	0,194	57,9 (5,9)	0,318	55,1 (6,0)	0,252
CD8i ^{low}	67,5 (9,2)		71,5 (9,0)		71,5 (9,0)	
FOXP3i ^{high}	58,2 (6,0)	0,302	68,2 (5,5)	0,077	65,4 (5,8)	0,089
FOXP3i ^{low}	36,2 (7,9)		36,2 (7,9)		36,2 (7,9)	
IL-17Ai ^{high}	51,6 (7,7)	0,297	61,4 (7,9)	0,573	60,9 (7,9)	0,822
IL-17Ai ^{low}	48,8 (5,0)		50,8 (4,9)		48,1 (5,1)	

Anhang 27: Überlebensstatistik - Korrelation mit intraepithelialen immunologischen Parametern im TZe

TIL Subgruppe	Mittleres OS (SE)		Mittleres DSS (SE)		Mittleres DFS (SE)	
	Monate	p-Wert	Monate	p-Wert	Monate	p-Wert
CD3s ^{high}	54,1 (6,5)	0,713	65,2 (6,1)	0,633	61,9 (6,4)	0,770
CD3s ^{low}	45,9 (6,6)		45,9 (6,6)		45,9 (6,6)	
CD4s ^{high}	54,7 (7,4)	0,667	67,1 (6,3)	0,671	62,6 (7,1)	0,872
CD4s ^{low}	47,6 (6,7)		47,6 (6,7)		47,6 (6,7)	
CD8s ^{high}	57,3 (6,4)	0,584	68,7 (6,0)	0,138	65,6 (6,3)	0,173
CD8s ^{low}	41,1 (6,5)		41,1 (6,5)		41,1 (6,5)	

Anhang

FOXP3s^{high}	60,1 (5,9)	0,023	68,3 (5,1)	0,016	65,4 (5,6)	0,027
FOXP3s^{low}	40,3 (9,4)		46,8 (10,2)		46,1 (10,1)	
IL-17As ^{high}	58,4 (8,0)	0,999	61,0 (8,0)	0,528	58,8 (8,4)	0,702
IL-17As ^{low}	54,7 (7,1)		65,3 (6,6)		62,9 (6,8)	

Anhang 28: Überlebensstatistik - Korrelation mit Stromalen immunologischen Parametern im TZe

Parameter OS	95% Konfidenzintervall (KI)			
	HR	Min.	Max.	p-Wert
Alter	1,5	0,6	3,6	0,376
Geschlecht	0,7	0,3	1,7	0,436
pT-Stadium	1,5	0,7	3,3	0,330
pN-Stadium	3,0	1,1	8,4	0,032
Grading	1,4	0,2	12,1	0,713
FOXP3s IF	1,8	0,7	4,4	0,212
DSS				
Alter	2,7	0,9	8,0	0,070
Geschlecht	0,6	0,2	1,7	0,351
pT-Stadium	1,5	0,6	3,7	0,380
pN-Stadium	3,0	0,9	9,6	0,061
Grading	1,3	0,5	3,4	0,993
FOXP3s IF	2,8	1,0	7,7	0,046
DFS				
Alter	2,1	0,8	5,7	0,158
Geschlecht	0,8	0,3	2,2	0,731
pT-Stadium	1,0	0,4	2,5	0,925
pN-Stadium	3,9	1,2	12,0	0,019
Grading	1,0	0,4	2,7	0,954
FOXP3s IF	3,1	1,2	8,2	0,021

Anhang 29: Multivariate Überlebensanalyse mit Stromalen FOXP3⁺-TILs an der IF unter Einbeziehung von Alter, Geschlecht, pT- Stadium, pN-Stadium und Grading

Parameter OS	95% Konfidenzintervall (KI)			
	HR	Min.	Max.	p-Wert
Alter	1,6	0,6	4,2	0,326
Geschlecht	1,4	0,5	4,1	0,551
pT-Stadium	2,1	0,9	5,1	0,098
pN-Stadium	2,4	0,9	6,6	0,092
Grading	1,3	0,6	2,9	0,742
FOXP3s TZe	2,8	1,0	7,8	0,049
DSS				
Alter	3,7	1,1	12,3	0,032

Anhang

Geschlecht	1,4	0,4	5,2	0,585
pT-Stadium	2,5	0,9	7,1	0,082
pN-Stadium	2,3	0,7	7,2	0,151
Grading	1,4	0,5	3,6	0,996
FOXP3s TZe	5,1	1,4	19,1	0,015
DFS				
Alter	2,3	0,8	6,9	0,122
Geschlecht	1,6	0,5	5,4	0,441
pT-Stadium	1,7	0,6	4,6	0,300
pN-Stadium	2,5	0,8	7,9	0,106
Grading	1,3	0,5	3,2	0,998
FOXP3s TZe	3,7	1,1	12,4	0,035

Anhang 30: Multivariate Überlebensanalyse mit stromalen FOXP3⁺-TILs innerhalb des TZe unter Einbeziehung von Alter, Geschlecht, pT- Stadium, pN-Stadium und Grading

8.6 Anhang: Überlebenszeit in Korrelation mit den Verhältnissen der TIL-Subgruppen

TIL Subgruppe	Mittleres OS (SE)		Mittleres DSS (SE)		Mittleres DFS (SE)	
	Monate	p-Wert	Monate	p-Wert	Monate	p-Wert
CD8i:CD3i ^{high}	47,7 (5,8)	0,083	56,5 (6,0)	0,177	56,1 (6,0)	0,514
CD8i:CD3i ^{low}	75,7 (8,3)		79,6 (7,8)		65,0 (10,9)	
CD8i:CD4i ^{high}	59,2 (7,1)	0,784	68,3 (6,8)	0,578	66,1 (6,9)	0,689
CD8i:CD4i ^{low}	45,2 (5,8)		52,3 (5,3)		50,6 (5,3)	
CD8i:FOXP3i ^{high}	54,4 (7,1)	0,168	64,6 (7,2)	0,314	64,1 (7,2)	0,731
CD8i:FOXP3i ^{low}	46,6 (4,8)		48,8 (4,6)		45,4 (4,8)	
CD8i:IL-17Ai ^{high}	58,3 (7,0)	0,434	66,4 (6,9)	0,187	65,9 (6,9)	0,580
CD8i:IL-17Ai ^{low}	45,4 (5,1)		52,6 (4,1)		48,6 (4,5)	
FOXP3i:CD3i ^{high}	55,8 (5,9)	0,415	59,7 (5,7)	0,646	59,6 (5,7)	0,823
FOXP3i:CD3i ^{low}	52,2 (9,4)		69,9 (10,0)		59,3 (10,2)	
FOXP3i:CD4i ^{high}	51,9 (6,6)	0,578	59,1 (6,3)	0,282	54,3 (6,4)	0,151
FOXP3i:CD4i ^{low}	65,3 (8,3)		77,4 (7,7)		77,4 (7,7)	
FOXP3i:IL-17Ai ^{high}	50,0 (7,0)	0,383	58,2 (6,7)	0,198	57,7 (6,7)	0,428
FOXP3i:IL-17Ai ^{low}	67,1 (8,0)		78,8 (7,3)		71,8 (8,0)	
CD4i:CD3i ^{high}	58,6 (6,1)	0,516	69,6 (6,6)	0,812	69,6 (6,6)	0,631
CD4i:CD3i ^{low}	60,8 (8,3)		64,6 (8,1)		54,0 (8,9)	
CD4i:IL-17Ai ^{high}	63,6 (7,6)	0,576	69,2 (7,3)	0,661	71,4 (7,2)	0,521
CD4i:IL-17Ai ^{low}	52,7 (7,4)		65,5 (7,1)		56,0 (7,6)	

Anhang 31: Überlebensstatistik - Korrelation mit den intraepithelialen TIL-Verhältnissen an der IF

TIL Subgruppe	Mittleres OS (SE)		Mittleres DSS (SE)		Mittleres DFS (SE)	
	Monate	p-Wert	Monate	p-Wert	Monate	p-Wert
CD8s:CD3s ^{high}	52,5 (5,7)	0,813	61,2 (5,6)	0,736	56,0 (5,8)	

Anhang

CD8s:CD3s ^{low}	59,1 (10,0)		65,3 (9,6)		68,7 (9,5)	0,677
CD8s:CD4s ^{high}	55,6 (6,0)	0,979	62,2 (5,9)	0,848	56,4 (6,1)	0,320
CD8s:CD4s ^{low}	60,0 (9,2)		72,1 (8,7)		75,3 (8,5)	
CD8s:FOXP3s ^{high}	50,5 (5,9)	0,570	60,5 (5,8)	0,958	55,0 (5,9)	0,472
CD8s:FOXP3s ^{low}	63,3 (9,2)		66,6 (9,2)		69,9 (9,1)	
CD8s:IL-17As ^{high}	46,9 (6,2)	0,135	58,0 (6,2)	0,370	53,3 (6,3)	0,223
CD8s:IL-17As ^{low}	50,2 (5,4)		52,6 (5,2)		52,6 (5,2)	
FOXP3s:CD3s ^{high}	59,5 (6,7)	0,696	69,1 (6,4)	0,632	65,9 (6,7)	0,526
FOXP3s:CD3s ^{low}	38,1 (5,7)		42,3 (5,7)		40,2 (5,7)	
FOXP3s:CD4s ^{high}	62,5 (6,7)	0,575	72,7 (6,2)	0,520	72,7 (6,2)	0,192
FOXP3s:CD4s ^{low}	41,3 (6,5)		46,4 (6,5)		42,4 (6,3)	
FOXP3s:IL-17As ^{high}	54,0 (6,1)	0,687	61,3 (5,8)	0,940	58,6 (6,0)	0,797
FOXP3s:IL-17As ^{low}	41,4 (5,9)		47,8 (6,0)		45,5 (6,0)	
CD4s:CD3s ^{high}	59,6 (6,9)	0,995	74,1 (6,3)	0,269	70,3 (6,8)	0,221
CD4s:CD3s ^{low}	54,6 (8,4)		54,6 (8,4)		52,0 (8,3)	
CD4s:IL-17As ^{high}	40,1 (4,4)	0,284	67,0 (4,5)	0,370	43,4 (4,4)	0,223
CD4s:IL-17As ^{low}	60,8 (7,7)		45,8 (7,3)		67,0 (7,3)	

Anhang 32: Überlebensstatistik - Korrelation mit den Stromalen TIL-Verhältnissen an der

IF

TIL Subgruppe	Mittleres OS (SE)		Mittleres DSS (SE)		Mittleres DFS (SE)	
	Monate	p-Wert	Monate	p-Wert	Monate	p-Wert
CD8i:CD3i ^{high}	56,2 (6,4)	0,626	63,7 (6,4)	0,765	63,3 (6,4)	0,454
CD8i:CD3i ^{low}	35,2 (5,3)		39,5 (5,1)		39,5 (5,5)	
CD8i:CD4i ^{high}	53,9 (6,2)	0,784	60,2 (6,0)	0,970	60,0 (6,0)	0,714
CD8i:CD4i ^{low}	56,1 (10,4)		64,1 (10,4)		52,4 (12,0)	
CD8i:FOXP3i ^{high}	52,1 (6,9)	0,353	63,7 (6,6)	0,678	60,3 (6,9)	0,561
CD8i:FOXP3i ^{low}	67,2 (9,3)		71,5 (8,9)		71,5 (8,9)	
CD8i:IL-17Ai ^{high}	49,7 (6,7)	0,665	58,7 (6,6)	0,861	55,0 (6,8)	0,981
CD8i:IL-17Ai ^{low}	58,8 (10,5)		58,8 (10,5)		58,8 (10,5)	
FOXP3i:CD3i ^{high}	55,5 (7,1)	0,780	64,9 (6,5)	0,689	64,6 (6,5)	0,519
FOXP3i:CD3i ^{low}	41,6 (5,9)		45,8 (5,9)		44,5 (5,8)	
FOXP3i:CD4i^{high}	61,0 (7,0)	0,056	70,6 (6,3)	0,022	67,0 (6,7)	0,025
FOXP3i:CD4i^{low}	31,2 (5,2)		32,7 (5,3)		32,7 (5,3)	
FOXP3i:IL-17Ai ^{high}	47,1 (7,3)	0,620	58,3 (6,7)	0,811	53,0 (7,3)	0,960
FOXP3i:IL-17Ai ^{low}	56,7 (9,9)		56,7 (9,9)		56,7 (9,9)	
CD4i:CD3i ^{high}	53,8 (8,1)	0,872	65,7 (7,5)	0,641	63,1 (7,6)	0,847
CD4i:CD3i ^{low}	55,7 (7,7)		58,3 (7,7)		57,0 (7,8)	
CD4i:IL-17Ai ^{high}	37,1 (4,1)	0,259	41,3 (4,2)	0,735	40,4 (4,1)	0,495
CD4i:IL-17Ai ^{low}	63,9 (10,3)		63,9 (10,3)		63,9 (10,3)	

Anhang 33: Überlebensstatistik - Korrelation mit den Intraepithelialen TIL-Verhältnissen

innerhalb des TZe

TIL Subgruppe	Mittleres OS (SE)		Mittleres DSS (SE)		Mittleres DFS (SE)	
	Monate	p-Wert	Monate	p-Wert	Monate	p-Wert

Anhang

CD8s:CD3s ^{high}	56,2 (6,3)	0,829	65,4 (6,0)	0,578	62,6 (6,2)	0,640
CD8s:CD3s ^{low}	40,4 (6,4)		43,0 (6,4)		43,0 (6,4)	
CD8s:CD4s^{high}	59,6 (6,1)	0,127	70,1 (5,3)	0,015	65,4 (5,8)	0,069
CD8s:CD4s^{low}	47,6 (10,1)		47,6 (10,1)		50,5 (10,3)	
CD8s:FOXP3s ^{high}	54,2 (6,9)	0,836	63,2 (6,5)	0,889	59,8 (6,8)	0,765
CD8s:FOXP3s ^{low}	44,3 (5,9)		48,8 (5,8)		48,8 (5,8)	
CD8s:IL-17As ^{high}	55,4 (6,8)	0,778	65,3 (6,2)	0,417	59,5 (6,7)	0,925
CD8s:IL-17As ^{low}	56,7 (8,8)		59,6 (8,8)		62,5 (8,8)	
FOXP3s:CD3s ^{high}	59,2 (6,0)	0,254	64,3 (5,8)	0,397	64,3 (5,8)	0,270
FOXP3s:CD3s ^{low}	46,6 (8,9)		58,3 (9,1)		53,6 (9,0)	
FOXP3s:CD4s ^{high}	56,7 (6,0)	0,779	63,8 (6,2)	0,842	63,8 (6,2)	0,609
FOXP3s:CD4s ^{low}	57,7 (9,3)		64,9 (9,1)		58,5 (9,7)	
FOXP3s:IL-17As ^{high}	60,6 (6,2)	0,163	67,8 (5,6)	0,183	64,5 (6,0)	0,260
FOXP3s:IL-17As ^{low}	49,9 (9,8)		57,0 (10,1)		56,6 (10,0)	
CD4s:CD3s ^{high}	60,8 (6,9)	0,802	64,9 (6,8)	0,875	58,9 (7,9)	0,637
CD4s:CD3s ^{low}	54,2 (8,5)		64,0 (8,3)		64,0 (8,3)	
CD4s:IL-17As ^{high}	45,7 (8,0)	0,103	60,0 (6,7)	0,268	52,9 (7,9)	0,136
CD4s:IL-17As ^{low}	70,6 (8,0)		74,1 (7,7)		74,1 (7,7)	

Anhang 34: Überlebensstatistik - Korrelation mit den Stromalen TIL-Verhältnissen innerhalb des TZe

Parameter OS	95% Konfidenzintervall (KI)			
	HR	Min.	Max.	p-Wert
Alter	1,4	0,5	3,8	0,527
Geschlecht	1,0	0,4	3,0	0,955
pT-Stadium	1,4	0,6	3,4	0,498
pN-Stadium	3,8	1,3	11,2	0,014
Grading	1,4	0,6	3,3	0,423
CD8s:CD4s TZe	2,1	0,8	5,7	0,137
DSS				
Alter	3,2	0,9	11,7	0,072
Geschlecht	0,8	0,2	3,0	0,737
pT-Stadium	1,3	0,4	3,5	0,665
pN-Stadium	4,5	1,3	15,9	0,020
Grading	1,3	0,5	3,9	0,588
CD8s:CD4s TZe	4,3	1,4	12,9	0,009
DFS				
Alter	2,1	0,7	6,8	0,205
Geschlecht	1,1	0,3	3,5	0,920
pT-Stadium	1,0	0,4	2,7	0,973
pN-Stadium	4,8	1,4	16,7	0,013
Grading	1,2	0,4	3,2	0,737

Anhang

CD8s:CD4s TZe	3,4	1,1	10,2	0,013
--------------------------	-----	-----	------	--------------

Anhang 35: Multivariate Überlebensanalyse mit stromalem CD8:CD4-Verhältnis innerhalb des TZe unter Einbeziehung von Alter, Geschlecht, pT- Stadium, pN-Stadium und Grading

9 Danksagung

Ich möchte mich an dieser Stelle bei meinem Doktorvater Prof. Dr. Dr. Andreas Kolk für die Überlassung des Themas und für die Betreuung meiner Arbeit bedanken.

Dr. Melanie Boxberg danke ich für ihre wertvolle Unterstützung und Zusammenarbeit während der gesamten Zeit der Dissertation.

Mein Dank gilt ebenso Frau Dr. Katja Steiger und Frau Marion Mielke von der Einheit für Vergleichende experimentelle Pathologie der Technischen Universität München für die labortechnische Arbeit.

Besonders möchte ich meinem Mann Christoph danken, der mich immer liebevoll ermutigt und motiviert hat.

Meiner Familie, insbesondere meinen Eltern, danke ich für ihre jederzeit fürsorgliche Unterstützung.

Meinen Freunden danke ich für ihr stets offenes Ohr in allen Belangen.

10 Vorveröffentlichungen

Boxberg, M., Leising, L., Steiger, K., Jesinghaus, M., Alkhamas, A., Mielke, M., Pfarr, N., Götz, C., Wolff, K., Weichert, W., & Kolk, A. (2019). Composition and Clinical Impact of the Immunologic Tumor Microenvironment in Oral Squamous Cell Carcinoma. *The Journal of Immunology*, *202* (1), 278 - 291. doi: 10.4049/jimmunol.1800242

Die Beteiligung an der Publikation umfasste die Recherche im Archiv, Datenerhebung der CD4⁺- und IL-17A⁺-Lymphozyten, sowie die statistische Auswertung der TIL-Subgruppen.